الكفايات العملية

لتخصص

فنيو المختبرات الطبية

تأليف

يوسف ابراهيم المشني　　عبد الرحيم حسني فطاير

١٩٩٩





عمان - الأردن

الكفايات العملية لفنيو المختبرات الطبية

تأليف

يوسف حسني المشني   عبد الرحيم فطاير

الناشر

دار المستقبل للنشر والتوزيع

عمان - الأردن

١٤٢٠ هـ - ٢٠٠٠ م

الطبعة الأولى

رقم الإيداع لدى دائرة المكتبة الوطنية
(١٩٩٩/٩/١٠٤٢)

رقم التصنيف: ٦١٢,٠١٥٧٨

المؤلف ومن هو في حكمه: يوسف ابراهيم المشني، عبد الرحيم حسني فطاير

عنوان الكتاب: الكفايات العلمية لتخصص فنيو المختبرات الطبية

الموضوع الرئيسي: ١. العلوم التطبيقية

٢. المختبرات - السلامة العامة

بيانات النشر: عمان : دار المستقبل

تم إعداد بيانات الفهرسة والتصنيف الأولية من قبل دائرة المكتبة الوطنية



طبع في مطابع الارز ٠٥/٣٦١٠٠١١

هذا الكتاب

تم وضع هذا الكتاب باللغة العربية ليشمل الكفايات العملية لتخصص فنيو المختبرات الطبية بأسلوب علمي تطبيقي ليتسنى للطالب التحضير المسبق للتجارب العملية التي سيطبقها في المختبرات ويحتكم إليه كأداة قياس على مدى إتقانه الخطوات والمهارات التي يجب ممارستها في المختبر سواء كان طالبا أو فنيا . ولكي تتعمق لدى القارئ الخلفية النظرية لكل كفاية عملية فقد تم تضمين كل كفاية عملية مبدأها العلمي والهدف من إجرائها .

الناشر

بسم الله الرحمن الرحيم

مقدمة :

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين وعلى آله وصحبه أجمعين وبعد:

فقد اقتضت الضرورة العلمية أن يوضع بين يدي طلبة المختبرات الطبية والعاملين في هذا المجال كتاب باللغة العربية يشمل الكفايات العملية لتخصص "فنيو المختبرات الطبية" بأسلوب عملي تطبيقي ليتسنى للطالب التحضير المسبق للتجارب العملية التي سيطبقها في المختبرات ويحتكم إليه (الكتاب) أداة قياس على مدى إتقان الخطوات والمهارات التي يجب عليه ممارستها في المختبر سواء أكان طالبا أم فنيا.

وعطفا عما تقدم فقد كان من الأهمية كتابة مبدأ التجربة وتسويغ كل خطوة من خطوات العمل حتى تتعمق لدى القارئ الخلفية النظرية لكل كفاية عملية كما أن تحديد هدف الكفاية وإعداد الأجهزة والمواد اللازمة لاجرائها قبل الشروع في تحضيرها يعني نجاحها والبعد عن الارتباك والتعطيل وفسادها أحيانا.

وقد اقتضت الخطة المنهجية لهذا الكتاب تقسيمه إلى تسعة فصول، قام بإعداد الأربعة الأولى منها يوسف المشني وهي على النحو التالي:

الفصل الأول: تناول كفايات علم الأحياء الدقيقة الاساسيات والطبي والتشخيصي.

والفصل الثاني: علم الطفيليات الطبي. والفصل الثالث: علم المناعة والامصال.

والفصل الرابع: علم التحصيرات المجهرية .

وقام بأعداد الخمسة الأخرى عبد الرحيم فطاير حيث تناولت الموضوعات التالية:

الفصل الخامس : علم الدم. والسادس: بنك الدم. والسابع : علم الكيمياء الحيوية السريرية.

والثامن : الكيمياء التحليلية. والتاسع : طرق التحليل الآلي.

وإنا لنرجو الله أن نكون قد وفقنا في عرض مادة هذا الكتاب بأمانة وموضوعية، آملين أن يعد عملنا هذا إضافة علمية في المكتبة العربية الطبية

والله من وراء القصد

المؤلفان

الفصل الأول

أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الوحدة الأولى: أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الكفايــــة العمليــــة -١-

اتقان اجراءات السلامة لمنع التلوث والاصابة في مختبرات علم الاحياء الدقيقة

الـــــهدف :

ان يكــون الطــالب قــادرا علــى القيــام بــإجراءات الســلامة فــي مختــبر علــم الاحيـــاء الدقيقة لمنـــع التلـــوث والاصابـــة.

المبـــدأ :

يعتمد على عدم التعرض لمسببات الأمراض من خلال العينات التي تحملها والوقاية من الاصابـــة من خلال التحصين ضد بعض الأمراض السارية.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- محـــاليل مطـــــــهرة مثـــــل Na-hypochlorite او Phenol
- محارم ورق تســـــتخدم لمـــرة واحـــدة .
- صـــــابون
- قناع وجـــــهي
- قفـــازات بلاســـتيكية

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اســـتخدم خزانـــة الســـلامة المحتويـــة علـــــى مفرغـــات للـــهواء اثنـــــاء تعـــاملك مـــــع الجراثيـــــم الضــــــارة للجـــــهاز التنفســـــــي بخاصـــة.	لمنـــع استنشـــاق الأحيـــاء الدقيقـــة المتعامل بـــــها .
.٢	الـــق الشـــــرائح والانـــــابيب والزجاجيـــــات الاخـــرى فـــي وعـــــاء يحتـــوي محلـــول مطـــــــهر مثـــــــل Na-hypochlorite او الفينـــول.	لقتل ما عليها مـــن أحيـــاء دقيقـــة.
.٣	عقــــم اطبــــاق الزراعــــات بـــــالحرق او المبخـــرة autoclave قبـــل القاءهــــا فـــــي سلة المـــــهملات.	لمنـــع انتشـــار الأحيـــاء الدقيقــــة وتسببها للتلـــــوث .
.٤	لا تدخـــن ولا تـــأكل ولا تشـــرب ولا تضــــع اصبعـــك او قلمـــك فـــي فمـــك ولا تفــــــرك عينيـــك اثنـــاء تواجـــدك فـــي مختـــبر علـــــم الاحياء الدقيقـــة.	لكـــي لا تنتقـــل اليـــــك الاحيـــاء الدقيقة بوساطة تلــــــط الطـــرق .

٥.	اغسل يديك بالماء والصابون قبل مغادرتك المختبر.	لمنع نقل الأحياء الدقيقة لخارج المختبر .
٦.	اخلع معطفك قبل مغادرتك للمختبر.	لمنع نشر الأحياء الدقيقة خارج المختبر .
٧.	امسح الطاولة التي تعمل عليها بالمطهرات بين الوقت والآخر.	لمنع نقل الأحياء الدقيقة اليك من الطاولة .
٨.	مارس جميع خطوات العمل بهدوء ورتابة ودون احداث تطاير في المواد واحرق سلك الحقن Wireloop قبل وبعد كل استعمال.	لمنع أي تلوث .
٩.	استخدم ماصات اوتوماتيكية وليس فموية ولا تنفخ بقايا السائل الموجودة في الماصة وضع الماصة في محلول مطهر بعد الاستخدام مباشرة.	لمنع انتقال الأحياء الدقيقة عبر الفم.
١٠.	قم بتحصين نفسك ضد بعض الامراض المعدية مثل الدفتيريا والكزاز وشلل الاطفال والسل والتيفونيد والجدري والحصبة الالمانية في حالة النساء الحوامل وضد فيروس التهاب الكبد خاصة من النوع B.	لاكساب مناعة ضد الأمراض المعدية .
١١.	حاول ارتداء قناع وجهي وقفازات يدوية بلاستيكية كلما دعت الحاجة لذلك.	لمنع تعرضك لمسببات الأمراض .

الكفايـــة العمليـــة -٢-

استعمال المجهر

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علــــــى اســـــتخدام المجـــــهر لمشـــــاهدة الشـــــرائح والمحافظة عليـــــه.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- قطـــن
- المجـــهر .
- محلول زايلـــــن

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	شغل مفتاح الانـــــارة	لاضاءة المصبـــــاح.
٢.	تـــأكد مـــن نظافـــة المجـــهر بعامـــة والعدســـات الشينية بخاصـــــة.	لمشـــــاهدة صـــــــــورة واضحـــة.
٣.	ابعد العدسات الشينية عن قاعدة الشريحة بوســـــاطة المنظم الخشن ثم ضع الشريحة على منضدتها .	للتحكم في وضع الشـــريحة بشكل مريح.
٤.	حدد العدسة الشيئية التي ترغب في اســـتخدامها أو ابدأ باستخدام العدسة ١٠ ثم ٤٠ ثم ١٠٠ .	لكل نوع مــــن التحضـــير عدسة خاصة به / تســـتخدم العدسة ١٠ لمسح الشريحة وضبط إظهار الصورة .
٥.	ارفع قاعدة الشريحة باتجاه العدسة الشـــيئية حتـــى تلامسها وبدون ان تكسرها بوساطة المنظم الخشن.	للبـــدء بخطـــوات اظـــهار الصورة.
٦.	الق نظرة من خلال العدستين العينيتين للتأكد مـــــن مناسبة كمية الضوء المنبعثة اذا لم تكــــن مناســـبة بامكانك زيادتها او انقاصها حسب ما تراه مناسبا.	لتنظيم الضوء
٧.	ضع عينيك على العدستين العينيتين ثم ابدأ بابعـــــاد الشريحة عن العدسة الشينية بلطف وهدوء وبـــطء حتى تظهر لك الصورة عندها توقف عن اســـتخدام المنظم المخشن.	للوصول الى قطرة ظهور الصورة.
٨.	حرك المنظـــم النـــاعم.	لتوضيـــح الصـــورة .
٩.	بعد الانتهاء من العمل تأكد من نظافـــــة العدســـات الشيئية من بقاياالزيت وذلك بمسحها بقطنة مغمـــورة بالزايلين وامسحه كذلك من الغبار .	للمحافظـــة علـــى نظافـــة الجهاز .

الكفاية العملية -٣-

استعمال الحاضنة Incubator

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استعمال الحاضنة والمحافظة عليها.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- فوطة وماء
- جهاز الحاضنة .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امسح الجهاز من الداخل والخارج بفوطة مبللة ثم جافة.	للمحافظة على نظافة الجهاز.
.٢	تأكد من عداد درجة الحرارة بأنه موضوع على درجة الحرارة المطلوبة .	لتحديد درجة الحرارة المطلوبة.
.٣	افتح الجهاز وضع المواد المراد حضنها داخل الجهاز.	لتوفير درجة حرارة مناسبة للمواد المحضونة.
.٤	تأكد من احكام اغلاق ابواب الجهاز (الزجاجي الداخلي والمعدني الخارج).	للمحافظة على ثبات درجة الحرارة داخل الجهاز.

الكفايـــة العمليـــة -٤-

استعمال المبخرة Autoclave

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا علـــى اســتعمال جــهاز المبخــرة والمحافظــة عليــه.

المبـدأ :

يعتمد على تسخين المـــاء وانتـــاج البخـــار فـــي جـــو مغلــق حتـــى يرتفـــع ضغـــط البخار ويؤدي ذلك إلى رفـــع درجـــة الحـــرارة داخــل الجــهاز.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- مـــاء.
- المواد المـــراد تعقيمـــها .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع كمية من الماء في الجـــهاز لتغطــي ارتفاع السخان الكهربائي.	لكي تكون مصدر للبخار.
٢.	ضع المواد المراد تعقيمـــها علـــى ســلة الجهاز وبشكل مرتب.	حتى لا تلامس قاع الجهاز وتبقـــى مرتفعة عنه.
٣.	ارجع السلة الى داخـــل الجـــهاز واغلقـــه باحكام.	تمهيدا للبدء بالتشغيل ومنعا لتسريب البخار.
٤.	اغلق أي صمام للبخار.	لمنع تسريب البخار .
٥.	شغل الجهاز باستخدام مفتاح التشغيل.	للبدء بعمل الجـــهازلتوفير الحـــرارة اللازمة للتعقيم .
٦.	راقب ساعات الضغط ودرجـــة الحـــرارة حتى تصل الى الدرجة المطلوبة وهي فـــي العادة ١٢١م والضغط ١٥ باوند/انش٢.	حتى نبدأ عندها بحساب الزمن.
٧.	راقب الزمن اللازم بعد ذلك وعـــادة مـــا يكون ١٥ دقيقة.	لكي لا نزيد الزمن او ننقصه وهـــذا الزمن كاف لتحقيق هدف التعقيم.
٨.	افتح صمام البخار في حالة ارتفاع درجـــة الحرارة او/و الضغط حتى يعـــودان الـــى الارقام المطلوبة.	لتثبيت الضغط ودرجة الحرارة.
٩.	اطفيء الجهاز بعد انقضاء الوقت الـــلازم وانتظر حتى تبرد قليلا ثم افتـــح الجـــهاز واخرج المواد المعقمة منه مرتديا قفـــازات قماشية واقية.	لانتهاء العملية ولمنـــع الاذى عـــن اليدين.

الكفاية العملية -٥-

استعمال فرن الهواء الحار Hot Air Oven

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استعمال فرن الهواء الحار والمحافظة عليه.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- فوطة وماء.
- جهاز فرن الهواء الحار .
- المواد المراد تعقيمها.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امسح الجهاز من الداخل والخارج بفوطة مبللة يليها فوطة جافة.	للمحافظة على نظافة الجهاز.
٢.	ضع التدريج الحراري على رقم درجة الحرارة المطلوبة.	لتحديد الدرجة المطلوبة.
٣.	انتظر حتى تصل درجة حرارة الجهاز درجة الحرارة المطلوبة وذلك بانطفاء مصباح منظم الحرارة Thermostat.	للتأكد من وصول الدرجة المطلوبة.
٤.	ضع المواد المراد تعقيمها وراقب الزمن اللأزم لذلك. (ملاحظة : يمكن ان تكون هذه الخطوة قبل الخطوة الثالثة).	لكي تتعرض للحرارة وتحقيق التعقيم.
٥.	اطفأ الجهاز وانتظر حتى يبرد قليلا، ثم بوساطة قفازات قماشية واقية اخرج المواد المعقمة من داخل الجهاز.	لانتهاء العمل والوقاية من اذى اليدين.

الكفاية العملية -٦-

طريقة الصبغة البسيطة Simple Staining

الهدف :

١- ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات طريقة الصبغة البسيطة .
٢- ان يكون الطالب قادرا على التعرف الى شكل وترتيب الخلايا.

المبدأ :

تتقبل جميع أنواع البكتيريا باستثناء البكتيريا المقاومة للحامض tsaF-dicA Bacilli الصبغة البسيطة وتستقر في جدارها الخلوي وتظهر بلون تلك الصبغة وهنا يكون اللون البنفسجي، وتفيد في إظهار شكل وتركيب الخلايا البكتيرية .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول ملحي ، نمو بكتيري على طبق بتري.
- لهب بنسون.
- سلك الحقن Wireloop
- صبغة بسيطة ميثيلين ازرق Methylene Blue، او Crystal Violet
- ورقة ترشيح
- زيت غمر
- مجهر.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر لطخة بكتيرية باستخدام محلول ملحي طبيعي وجففها وثبتها بتمريرها فوق اللهب بزاوية ٤٥ ثلاث مرات.	لفحص البكتيريا والتثبيت لمنع الانزلاق مع الغسيل.
٢.	اغمر الشريحة في أي صبغة بسيطة مثل الميثيلين الازرق او Crystal violet لمدة نصف دقيقة الى دقيقة واحدة.	لاكتساب اللون.
٣.	اغسل الشريحة بماء الحنفية الجاري الهاديء	للتخلص من بقايا الصبغة .
٤.	جفف الشريحة بالضغط عليها بوساطة ورقتي ترشيح.	للتخلص من بقايا الماء.
٥.	ضع قطرة زيت على اللطخة smear وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية ١٠٠.	لتجميع الاشعة المتشتتة بعد اختراقها للشريحة ومشاهدة شكل وترتيب الخلايا .

الكفاية العملية -٧-

طريقة جرام في الصبغ Gram Staining

الهدف :

١-ان يكون الطالب قادرا على اتقان خطوات طريقة جرام في الصبغ.
٢-ان يكون الطالب قادرا على تمييز تفاعل البكتيريا مع صبغة جرام وشكل الخلايا وترتيبها .

المبدأ:

عند دخول صبغة جرام إلى جدار الخلية فإنها ترتبط مع مواقع الاستقبال فيه وعند إضافة اليود فإن الأخير يقوم بترسيخ وتثبيت صبغة جرام في جدار الخلية عن طريق اتحاده معه وتكوين مركب معقد من المحلولين ويزيد من قوة ترابطهما، وعند إضافة الكحول المزيل للصبغة فإنه قد ينجح في إزالة صبغة جرام من جدار الخلية بعد إذابتها وفي هذه الحالة تكون البكتيريا قد تقبلت الصبغة البديلة سفرانين وتظهر باللون الأحمر ونقول في هذه الحالة أن البكتيريا لم تتقبل صبغة جرام وأنها سالبة التفاعل معها. أو أن الكحول لا يتمكن من إذابتها وبالتالي من إزالتها من جدار الخلية وفي هذه الحالة لن يكون للصبغة البديلة أية مواقع استقبال ونقول في هذه الحالة أن البكتيريا تقبلت صبغة جرام وأنها ايجابية التفاعل معها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول ملحي.
- نمو بكتيري على طبق بتري
- صبغة Crystal violet
- كحول مطلق
- ورق ترشيح
- مجهر
- سلك الحقن Wireloop
- لهب بنسون
- محلو اليود
- صبغة بديلة Safranin
- زيت غمر
- ماء حنفية

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	حضر اللطخة البكتيرية باستخدام محلول ملحي طبيعي ، جفف وثبت.	تمهيدا لفحصها، التثبيت لمنع انزلاق اللطخة.
.٢	اغمر الشريحة في محلول صبغة جرام Crystal violet لمدة ٣٠-٦٠ ثانية	لتأخذ الصبغة.
.٣	اغسل الشريحة بماء الحنفية الهاديء ثم اغمر في محلول اليود لمدة ٣٠-٦٠ ثانية.	للتخلص من بقايا الصبغة واليود لتثبيت صبغة جرام في جدار الخلية.
.٤	اغسل الشريحة ثم اغمر في الكحول المطلق لمدة ٦٠ ثانية.	للتخلص من اثار اليود ثم لازالة الصبغة بالكحول.

لصبغ الخلايا التي لم تثبت فيها صبغة جرام.	اغسل الشريحة جيدا ثم اغمر في الصبغة البديلة Safranin لمدة ٣٠-٦٠ ثانية.	٥.
للتخلص من بقايا الصبغة والماء. لتوضيح الصبغة تحت العدسة الزيتية.	اغسل الشريحة جيدا ثم جففها ثم ضع قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية.	٦.
قراءة النتيجة وبذلك تكون البكتيريا قد تقبلت صبغة جرام في حالة ايجابية التفاعل ولم تتقبلها في حالة سلبية التفاعل .	اذا ظهر لون الخلايا بنفسجيا تكون البكتيريا ايجابية التفاعل مع صبغة جرام، واذا ظهر لون الخلايا احمرا تكون البكتيريا سالبة التفاعل مع صبغة جرام.	٧.

الكفايــــة العمليــــة -٨-

تقنية القطرة المعلقة

Hanging Drop Techn.

المبــدأ :

يعتمــد علــى إعطــاء الحريــة الكامنــة للخلايــا البكتيريــة فــي الحركــة إذا كــانت متحركة، وبالتالي نعلــق قطــرة المعنــق فــي تجويــف لا يمســها ســطحا وبالتــالي تظهر البكتيريا علــى حقيقتــها فــي صفــة الحركــة وبذلــك نتجنــب ظــهور نتــائج سلبية خاطئة كمــا يحــدث فــي حالــة اســتخدام الشــريحة العاديــة أحيانــا، ويمكــن اســتخدام المحلــول الملحــي ليتســاوى الضغــط الأســموزي علــى جــانبي غشــاء الخليــة.

الـــهدف :

١- ان يكون الطالب قادرا على اجراء خطوات تقنية القطرة المعلقة .

٢- ان يكون الطالب قادرا على تمييز البكتيريا المتحركة من غير المتحركة.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- محلول محلـــي طبيعـــي
- شريحة ذات فجوة Cavity slide
- ســلك الحقـــن Wireloop
- مجهر

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ضع قطرة من المحلول الملحي الطبيعـــي N.S على منتصف غطاء شريحة.	لعمل المعنـــق.
.٢	خذ مستعمرة بكتيريـــة بوســاطة ســلك الحقــن Wireloop وامزجها مع قطرة المحلول الملحـــي لتكوين معلق بكتيري.	لتحضير المعلـــق.
.٣	امسح بطرف قطنة مبللة بالمـــاء علـــى حـــواف غطاء الشريحة.	لاحداث التصـــاق بيـــن غطـــاء الشريحة و الشريحة.
.٤	اقلـــب الشـــريحة ذات الفجـــوة Cavity slide على غطـــاء الشـــريحة بحيـــث تكـــون قطرة المعلق فـــي فـــراغ التجويـــف.	لكي تأتي قطـــرة المعلـــق فـــي التجويف ولا تخضع لاي ضغـــط قد يؤدي الى ظهور نتائج ســـلبية خاطئة.
.٥	اقلب الشريحة الى وضعها الطبيعـــي وشـــاهدها تحت المجهر باستخدام العدســـات ذات التكبـــير المنخفض .	للتـــأكد مـــن حركـــة البكتيريـــا باستخدام العدســـات الجافـــة .
.٦	ضع طبقة رقيقة من المعجونة على حواف غطاء الشريحة الموضوع عليه قطرة المعلق البكتـــيري واقلب فوقها شريحة زجاجية عادية .	تستخدم هذه الطريقة فـــي حالـــة عدم توفر الشريحة ذات الفجوة .

الكفاية العملية -٩-

تحضير الاوساط الزراعية Preparation of Culture Media

الهدف :

١-ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تحضير الاوساط الزراعية .
٢-ان يكون الطالب قادرا على الحكم على صحة ما قام به من عمل.

المبدأ :

يعتمد ذلك على التقيد بمحتويات الوسط كما ونوعا وتحضير وسط معقم لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة وظهور نمو بكتيري غير مطلوب .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مسحوق الوسط
- ميزان
- جهاز المبخرة autoclave
- قارورة
- ماء مقطر
- لهب بنسون
- شريط لاصق

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	زن مسحوق الوسط المراد تحضيره وحسب التعليمات المثبتة على العلبة.	لأخذ الكمية المناسبة مع الحجم المطلوب تحضيره.
.٢	اذب المسحوق الموزون في الكمية المطلوبة من الماء المقطر بالتحريك والتسخين وتأكد من pH.	للتأكد من توافق pH الواقع بما هو مكتوب على العلبة .
.٣	احكم اغلاق القارورة وضعها في جهاز المبخرة autoclave لمدة ١٥ دقيقة تحت ضغط ١٥ باوند/انش٢ ودرجة حرارة ١٢١م.	للتعقيم
.٤	اخرج القارورة وانتظر قليلا حتى تبرد (٥٠-٥٥م).	لامساكها بدون اذى لليد ولمنع اسالة اطباق بتري البلاستيكية عند الصب فيها.
.٥	حضر طاولة نظيفة ومطهرة بالكحول او غيره وبين لهبين مشتعلين من لهب بنسون رتب اطباق بتري المعقمة وابدأ في الصب.	منع التلوث ثم الشروع بالصب.
.٦	تخلص من فقاعات الهواء في الطبق	لأن وجود الفقاعات يشوه

	بتعريضها للـــهب بشـــكل مباشـــر.	المنظر ويعيـــق انتظـــام خطـــوط الزراعـــة .
٧.	لا تغلـــق الاطبـــاق بـــل ضـــع الغطـــاء علـــى حافة الطبـــق حتـــى يتصلـــب الوســـط (يمكـــن تفحـــص ذلـــك عـــن طريـــق تحريـــك الطبـــق باتجـــاه اليميـــن واليســـار فـــإن لـــم يتحـــرك الوسط دل ذلـــك علـــى تصلبـــه).	منـــع تكثـــف البخـــار علـــى غطاء الطبـــق.
٨.	اختـــر عـــددا قليـــلا مـــن الاطبـــاق ٢-٣ عشوائيا وضعـــها فـــي الحاضنـــة لليـــوم التـــالي للتأكد من عـــدم تلوثـــها.	للتحقـــق مـــن نجـــاح عمليـــة التعقيـــم

الكفايـــة العمليـــة -١٠-

زراعة البكتيريا بطريقة التخطيط للحصول على مستعمرات منفردة (نمو نقي)

Streaking Method

الـــهدف :

١.ان يكون الطالب قادرا على اتقان خطوات زراعة البكتيريا بطريقة التخطيط .
٢.الحصول علـــى مســتعمرات منفــردة .
٣.الحصول على نمـــو نقــي.

المبـــدأ:

يعتمد على نشــــر كميـــة محـــددة مـــن النمـــو علـــى مســاحات كبــيرة وهــذا يقــود إلـــى تفريق الخلايــا وبالتـــالي ظـــهور مســتعمرات منفــردة .

الأجــهزة والادوات والمـــواد اللازمــــة :

- النمو البكتـــيري
- وسط زراعي فـــي طبــق بــتري .
- حاضنـــة
- سلك الحقـــن
- لهب بنســـون .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	خـــذ النمـــو المـــراد زراعتـــه علـــى حلقــــة الســـلك المعقـــم البـــارد Wireloop وعلـــــى طبـــق الوســـط المناســـب لامـــــس الحلقــــة لســـطح الوســـط بلطـــف ثـــم مـــرره علـــــى شكل خط مســـتقيم حتـــى يصـــل الـــى طـــرف الطبق ليشكل مثـــل وتـــر الدائـــرة.	لنشـــر النمـــو علـــى طــــول خطوط الزراعـــة.
.٢	ارفـــع حلقـــة الســـلك عـــن ســـطح الوســـط واعمل خطا ثانيـــا موازيـــا لـــلاول ثـــم ثـــالث (يمكــــن ان نســـمي الخطـــوط الثلاثــــة بمنطقة التخطيـــط الاولـــى).	لتخفيـــف النمـــو عـــن طريـــق نشـــره .
.٣	احرق حلقة الســـلك واســـمح لـــها بـــان تـــبرد ثـــم مـــن نهايـــة خطـــوط منطقـــة التخطيـــط الاولى مــــرر حلقـــة الســـلك بشـــكل عمـــودي علـــى الخطـــوط الاولـــى وكـــــرر العمليـــــة ثلاث مرات (منطقـــة التخطيـــط الثانيـــة).	لتخفيـــف النمـــو عـــن طريـــق نشـــره .
.٤	احـــرق حلقـــة الســـلك وبردهـــا ثـــم كـــــرر العملية كما فــــي الخطـــوة ٣ .	مزيدا من تخفيـــف النمـــو.

٥.	احرق حلقة السلك ثم غط الطبق وضعه في الحاضنة لليوم التالي .	منع التلوث والحضانة لتزويد البكتيريا بالظروف المناسبة .
٦.	تفحص الطبق في اليوم التالي ستجد ان منطقة التخطيط الثالثة تحتوي على مستعمرات منفردة.	ملاحظة النتيجة وتعتبر المنطقة الثالثة أعلى منطقة تخفيف .
٧.	اذا كان هناك اكثر من نوع من المستعمرات انقل كل نوع الى طبق جديد بالتخطيط واحضنه لليوم التالي.	للحصول على نمو نقي.

الكفايـــة العمليـــة -١١-

زراعة البكتيريا بطريقة الصب للحصول على نمو نقي

The Pour Plate Technique

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى القيـــام بـــإجراءات الحصـــول علـــى نمـــو نقـــي بطريقـــة الصـــب.

المبـــدأ:

يعتمد على وضع البكتيريا المراد عزلها في وسط صلب في حالة سيولة ومزجهما جيدا ثم صبـــهما في اطباق فارغة بعد القيام بعملية تخفيف متسلسل للنمو .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- وسط زراعـــي مناســـب
- سلك حقـــن .
- قلم وســـم.
- انابيب اختبـــار معقمـــة.
- أطباق بـــتري معقمـــة .
- حاضنـــة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	وزع الوســـط الزراعـــي المناســـب الصلـــب فـــي حالـــة ســـيولة بدرجـــة لا تتعـــدى ٤٥م في انابيب اختبـــار وباحجـــام متســـاوية.	
٢.	انقل عبـــوة حنقـــة ســـلك التلقيـــح مـــن النمـــو الـــي الانبـــوب الاول.	اول خطـــــوات التخفيـــــف والحقـــن.
٣.	امزج جيدا ثم انقل عبوة حلقة سلك التلقيح مـــن الانبوب الاول الى الانبوب الثاني ثم الى الثـــالث وهكذا حتى الانبوب الخامس.	عملية تخفيف كثافـــة النمـــو.
٤.	صـــب محتويـــات كـــل انبـــوب فـــي طبـــق بتري موسوم وانتظـــر حتـــى تتصلـــب .	لمشـــاهدة المســـتعمرات الناميـــة المنفـــردة علـــى ســـطح الطبـــق وسهولة التقاطهما فيمـــا بعـــد .
٥.	ضع الاطباق في الحاضنة تحت درجـــة ٣٧م او أي درجة مناسبة ولمدة ٢٤ساعة.	لاتمام الزراعـــة.
٦.	اخرج الاطباق من الحاضنة وتفحـــص فـــي أي الاطباق توجد مستعمرات منفردة.	لمشـــاهدة النتيجـــة ومتابعـــة الحصول على نمـــو نقـــي .
٧.	اذا كان في الطبق اكثر من نوع من المستعمرات التقط مستعمرة واحدة من كل نوع وانقلـــه الـــى طبق خاص ثم اعد الحضانة لليوم التالي.	لاتمـــام الحصـــول علـــى نمـــو نقـــي.

الكفاية العملية -١٢-

دراسة صفات المستعمرات البكتيرية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على وصف المستعمرات البكتيرية النامية.

المبدأ:

يعتمد على دراسة المستعمرة من حيث الشكل والحجم واللون والقوام واللزوجة وتحلل الدم وشكل الحواف .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسط زراعي محدد يحوي نموا بكتيريا نقيا.
- سلك الحقن Wire-loop

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	انظر الى الوسط الزراعي وحدد نوعه.	لأن صفات المستعمرات تختلف باختلاف نوع الوسط الزراعي المستخدم.
.٢	صف حجم المستعمرات صغيرا او متوسطا او كبيرا.	أخذ صفة الحجم .
.٣	صف شكل المستعمرات دائريا ام غير دائري.	أخذ صفة الشكل .
.٤	صف حواف المستعمرات منتظمة ام غير منتظمة ام منشارية.	أخذ صفة الحافة .
.٥	صف سطح المستعمرات هل هو ناعم ام خشن، املس ام متجعد، جاف ام رطب، لامع ام مطفي.	أخذ صفة السطح .
.٦	صف ارتفاع المستعمرات هل هي منبسطة ام محدبة ام مقببة.	أخذ صفة الارتفاع .
.٧	المس سطح المستعمرة بوساطة سلك الحقن وارفعه للأعلى، فإذا تكون خيط فهي مخاطية وإلا فلا .	أخذ صفة المخاطية .
.٨	صف لون المستعمرات هل هي حمراء ام وردية ام خضراء ام سوداء ام بيضاء ام رمادية ...الخ.	أخذ صفة اللون .
.٩	صف نوع تحلل الدم الناتج اذا كان الوسط Blood Agar هل هو من النوع α ام β ام δ.	أخذ صفة نوع تحلل الدم

الكفاية العملية -١٣-

عد الخلايا البكتيرية في العينات السائلة على الأوساط الصلبة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بعد الخلايا البكتيرية في العينات السائلة مثل الماء والحليب واي سائل آخر.

المبدأ :

يعتمد على زراعة حجم محدد من العينة المتجانسة وعد المستعمرات النامية بعد فترة الحضانة لتمثل كل مستعمرة نامية خلية بكتيرية في العينة الأصيلة بحيث يسوى العدد النهائي لكل ملل من العينة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- العينة
- وسط سائل او محلول ملحي طبيعي معقم.
- وسط صلب مناسب مثل B.A و E.M.B.
- سلك الحقن Wire-loop
- حاضنة

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن ١ ملل من العينة السائلة في انبوب يحوي ٩ ملل من الوسط السائل او N.S معقم ثم امزج.	تخفيف ١٠:١
٢.	انقل ٠,١ ملل من الانبوب الى سطح وسط صلب مناسب ثم انشر بوساطة سلك الحقن Wireloop وبطريقة التخطيط.	حقن الوسط بالعينة.
٣.	احضن الطبق في الحاضنة تحت ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.	تزويدها بالظروف والوقت اللازمين للنمو.
٤.	عد المستعمرات النامية بالعين المجردة ثم اضرب العدد في الرقم ١٠٠ فتحصل على عدد الخلايا في ١ ملل من العينة.	كل مستعمرة نامية تمثل خلية في العينة ، كانت نسبة التخفيف ١٠:١ ثم اخذ ٠,١ ملل فتصبح نسبة التخفيف ١٠٠:١.

الكفايـــة العمليـــة -١٤-

فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية حسب طريقة Bauer–Kirby

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علــى اجــراء فحــــص حساســـية البكتيريـــا للمضـــادات الحيوية واخذ القـــراءة وكتابـــة التقريـــر للطبيـــب.

المبـــدأ:

يعتمد على مدى قدرة المضاد الحيوي على قتل البكتيريا سواء بالتثبيط والقتل وكلاهما يؤدي إلى موت البكتيريا وبالتالي نستطيع تصنيف البكتيريا لتأثرها بالمضاد الحيوي ســواء التحسســية أم الوسطية أو المقاومة.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمــــة :

- وســط حساســـية Sensitivity Agar
- البكتيريا المـــراد فحصـــها
- اقـــراص مختلفـــــة مـــن المضـــادات الحيويـــة
- ماســحة قطنيـــة Cotton swab
- حاضنـــة
- انبـــوب يحـــوي ٤ ملـــــــل Trypticase soy broth
- محلـــول معيـــاري لكبريتـــــات البـــاريوم
- ملقـــط .
- مســطرة
- جـــدول Bauer–Kirby

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	انقـــل ٥ مســـتعمرات مـــن النمـــو النقـــي المـــراد فحصـــه الـــى انبـــوب يحـــوي ٤ ملـــل مـــن Trypticase soy broth	لتنشيط النمـــو
.٢	ضـــع الانبـــوب فـــي الحاضنـــة تحـــت درجـــة ٣٧م لمـــدة ٢-٥ ســـاعات .	لانتاج معلق متوســـط العكـــورة
.٣	قـــارن انبـــوب النمـــو مـــع الانبـــوب المعيـــاري لمحلـــول كبريتـــات البـــاريوم من حيث العكـــورة.	لمعايرة كثافة النمـــو المعنـــي .
.٤	خفف بالماء المعقم او المحلول الملحي المعقـم اذا كانت كثافة النمو اعلـــى مـــن المحلـــول المعياري او مدد فترة الحضانة اذا كانت اقل.	لضبط كثافة النمـــو

٥.	اغمر الماسحة القطنية Cotton swab في انبوب النمو ولفه على جدار الانبوب.	ليحمل عددا من البكتيريا والتخلص من الزائد.
٦.	انشر ما علق على الماسحة القطنية من نمو على سطح طبق الوسط Agar Sensitivity.	لتوزيع النمو على كامل سطح الطبق بشكل متجانس.
٧.	انتظر لمدة ٣-٥ دقائق ثم ضع اقراص المضادات الحيوية على سطح الطبق بشكل منتظم مع ضغط خفيف عليها بوساطة الملقط المعقم.	حتى يجف سطح الطبق ولتجنب تقاطع حلقات القتل ومنع تحرك الاقراص من مكانها.
٨.	ضع الطبق في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.	للسماح للبكتيريا بالنمو.
٩.	في اليوم التالي خذ قياس قطر حلقات قتل البكتيريا حول الاقراص بوساطة المسطرة.	لمعرفة قطر حلقة القتل حول قرص المضاد الحيوي.
١٠.	قارن اقطار حلقات القتل مع الجدول المعياري.	للحكم على أن المضاد قاتل أم متوسط القتل أم غير قاتل .
١١.	اكتب التقرير كما يلي : ١. البكتيريا المعزولة حساسة لـ : ١. ٢. ٣. ١. ومقاومة لـ : ١. ٢. ٣.	حتى يعلم الطبيب أنواع المضادات الحيوية المستخدمة في الفحص كاملة .

الكفاية العملية -١٥-

قياس تركيز الحد الأدنى المثبط (القاتل) للمضاد الحيوي (MIC)

Minimum Inhibitory Conc

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات قياس تركيز الحد الأدنى للمضاد الحيوي القاتل للبكتيريا.

المبدأ :

عمل تراكيز مختلفة للمضاد الحيوي موضوع البحث وإضافة كمية ثابتة من النمو البكتيري في وسط مناسب لنموه ثم مشاهدة أقل التراكيز التي تمنع البكتيريا من النمو .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب اختبار معقمة.
- ماصات معقمة.
- أطباق بتري معقمة.
- المضاد الحيوي موضوع الدراسة.
- محاليل تخفيف معقمة مثل N.S
- وسط زراعي معقم صلب في حالة سيولة.
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	حضر تخفيف متدرج للمضاد الحيوي المعني في أنابيب اختبار معقمة وبمحلول وأدوات معقمة مثل ١:١٠ ، ١:١٠٠ ، ١:١٠٠٠ . وهكذا أو ١:١٠ ، ١:٢٠ ، ١:٤٠ ، وهكذا .	للحصول على تراكيز متسلسلة من المضاد الحيوي.
.٢	أضف إلى الأنابيب كمية ثابتة من الوسط الزراعي ١٥-٢٠ ملل .	ليستخدم في تنمية البكتيريا.
.٣	أضف كمية ثابتة من معلق البكتيريا النقية إلى الأنابيب.	لمشاهدة تأثير المضاد الحيوي على نمو البكتيريا.
.٤	امزج جيدا ثم صب محتوى كل أنبوب في طبق بتري فارغ معقم وانتظر حتى يتصلب الوسط.	للحصول على التجانس وسهولة تداول الأطباق بعد تصلب الوسط.
.٥	ضع الأطباق في الحاضنة لليوم التالي.	لتهيئة الظروف الفيزيائية لنمو البكتيريا.
.٦	اقرأ النتائج بملاحظة عدم ظهور نمو في الطبق المحتوى على اقل تركيز وبذلك يكون هذا التركيز هو MIC للمضاد الحيوي المستخدم.	سيظهر نمو في الأطباق المحتوية على التراكيز المنخفضة من المضاد الحيوي تدريجيا حتى نصل إلى التركيز الأقل الذي لا يظهر عليه نمو بكتيري.

الكفاية العملية -١٦-

صبغ المحفظة (Capsule) والأبواغ (Spores)

الهدف :

١.ان يصبح الطالب قادرا على القيام بإجراءات صبغ المحفظة والأبواغ .
٢.أن يصبح الطالب قادرا على الكشف عن المحفظة والأبواغ والتعرف عليها .

المبدأ:

يعتمد على صبغ الخلية وهي محاطة بطبقة شفافة من المحفظة، وكذلك صبغ الأبواغ بصبغة قوية مثل Malachite green مسخنة ثم صبغ باقي أجزاء الخلية بالصبغة البديلة مثل Safranin فتظهر الأبواغ باللون الأخضر وباقي أجزاء الخلية باللون الأحمر .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- نمو نقي
- شرائح زجاجية
- صبغة malachitegreen
- مصدر لهب خفيف (ماسحة قطنية مبللة بالكحول
- سلك الحقن
- صبغة الأيوسين
- صبغة Sarranin
- زيت غمر

الرقم	الخطوات	المبررات
	أ. صبغ المحفظة :	
١.	ضع قطرة من صبغة الأيوسين على طرف شريحة زجاجية نظيفة ثم أضف إليها قليلا من النمو البكتيري وامزجهما بوساطة سلك الحقن.	لتحضير معلق النمو البكتيري .
٢.	ضع حافة شريحة زجاجية أخرى على طرف قطرة المعلق وبزاوية ٤٥ درجة ،اسحب الشريحة باتجاه طرف الشريحة الآخر .	تحضير اللطخة مع الصبغة .
٣.	جفف في الهواء وضع قطرة زيت غمر وشاهدها مجهريا تحت العدسة الزيتية .	لتفحصها مجهريا .
٤.	إن وجود طبقة شفافة بدون لون حول الخلية ذات اللون الأحمر يدل على وجود المحفظة والعكس صحيح .	لأخذ النتيجة .
	ب. صبغ الأبواغ :	
١.	حضر لطخة النمو المعني وجففها وثبتها .	تحضير اللطخة الثابتة .
٢.	أغمر اللطخة بصبغة Malachite green واشعل تحتها ماسحة قطنية مبللة بالكحول حتى يتصاعد على بخار من الصبغة، ابعد اللهب وانتظر لمدة ٥ دقائق .	لأنها صبغة قوية والتسخين لفتح مسامات في جدران البوغ لاختراق الصبغة إلى داخل الأبواغ .

٣.	اغسل الشريحة بماء الحنفية الجاري والـــهادئ غسلا جيدا .	للتخلص من بقايا الصبغة.
٤.	أغمر الشريحة بالصبغة البديلة Safranin لمـــدة ٣٠ ثانية .	لصبغ أجزاء الخلية الأخرى غير الأبواغ.
٥.	اغسل الشريحة جيدا بماء الحنفية الهادئ ثـــم جفف .	للتخلص من بقايا الصبغة.
٦.	ضع قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجـــهر مستخدما العدسة الزيتية. إن ظـــهور أجســـام بيضاوية بلون أخضر داخل أو خارج الخلايـــا التي تظهر باللون الأحمر دليل وجود الأبواغ .	لأخذ النتيجة والبحث عن وجود الأبواغ .

الفصل الأول

أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الوحدة الثانية: علم الأحياء الدقيقة الطبي

الكفاية العملية –١٧–

دراسة زراعة نقية للبكتيريا وتشمل جميع انواع البكتيريا مثل

.Bacillus, E.coli , Neisseria, Strep, Staph, Klebsiella, ...الخ

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا علـــى القيـــام بتشـــخيص البكتيريـــا النقيـــة مـــن خـــلال :

أ- الصفـــات الشـــكلية
ب- الصفـــات الزراعيـــة
ج- الصفـــات الكيميائيـــة الحيويـــة
د- الصفـــات المصليـــة.

المبـــدأ :

تعتمد دراســـة الزراعـــة النقيـــة علـــى رصـــد الصفـــات الشـــكلية والزراعيـــة والكيميائيـــة الحيوية والمصليـــة حتـــى تدعـــم كـــل واحـــدة منـــها الأخـــرى للوصـــول إلـــى تشـــخيص نوع البكتيريـــا موضـــوع البحـــث .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- مواد طريقة جـــرام فـــي الصبـــغ
- مواد تجربـــة القطـــرة المعلقـــة
- مواد صبـــغ المحفظـــة والابـــواغ
- اوساط زراعية مختلفـــة بـــاختلاف نـــوع البكتيريـــا موضـــوع الدراســـة.
- اوساط ســـكرية واوســـاط خاصـــة ببعـــض الفحوصـــات المســـتخدمة للتشـــخيص.
- امصال تحوي اجســـاما مضـــادة متخصصـــة ضـــد البكتيريـــا موضـــوع الدراســـة.
- حاضنـــة .

الرقم	الخطوات	المبررات
	أ-الصفات الشكلية:	
١.	حضـــر لطخـــة علـــى شـــريحة واصبغـــها بطريقة جـــرام.	لمعرفـــة تفاعلـــها مـــع صبغـــة جرام والشـــكل والـــترتيب.
٢.	تفحـــص الحركـــة بوســـاطة تقنيـــة القطـــرة المعلقـــة.	
٣.	حضر لطخـــة واصبغـــها بالايوســـين.	لمشـــاهدة المحفظـــة Capsule
٤.	حضر لطخة واصبغها بـــ Malachite green	لمشـــاهدة الابـــواغ Spores

	ب-الصفات الزراعية:	
.١	احقن النمو على اوساط مختلفة مثل EMB, B.A, Macc. ويعتمد ذلك على نوع البكتيريا موضوع الدراسة.	لأخذ صفات المستعمرات على الأوساط المختلفة
.٢	ضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ساعة.	
.٣	خذ الصفات الزراعة وسجلها.	
	ج-الصفات الكيميائية الحيوية:	
.١	احقن البكتيريا موضوع الدراسة في اوساط سكرية مختلفة.	لمعرفة السكريات التي تخمر بفعل هذه البكتيريا.
.٢	اجر التجارب الخاصة والمستخدمة في تشخيص البكتيريا مثل Citrate, Urease, Catalese ... الخ.	لتساعد على التشخيص.
	د-الصفات المصلية:	
.١	فاعل البكتيريا موضوع الدراسة مع اجسام مضادة متخصصة لها سواء على الشريحة او في انبوب الاختبار ولاحظ التفاعلات الايجابية الناتجة عن ذلك.	تساعد في تشخيص البكتيريا

الكفايـــة العمليـــة -١٨-

الكشف عن الفطريات بالتحضير المباشر من العينة أو من النمو

المبدأ:

يعتمد على استخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم كمحلول لعمل معلـــق فطـــري يلعب دور المحلول الملحي الطبيعي في حالة البكتيريا.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أداة حادة الحافة مثل شفرة طبية أو شريحة زجاجية.
- شرائح زجاجية وأغطية الشرائح.
- سلك الحقن Wire Loop .
- نمو عفن و / أو خميرة .
- مجهر .
- ملقط .
- محلول ١٠-١٥ KoH NaoH

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اكشط المنطقة المصابة مـــن الجلـــد بوســـاطة الشفرة أو حافة شـــريحة أو قـــص الشـــعرة أو الأظفر المصاب واجمع ما ينتج عن ذلـــك فـــي طبق بتري أو على شريحة زجاجية و / أو خـــذ بوساطة سلك الحقن قليلا من نمو الخميرة و/ أو خذ بوساطة ملقط معقم قليلا من نمو العفن .	جمع العينة .
٢.	أضف ما جمعته في الخطوة (١) إلى قطرة مـــن محلول KoH ١٠-١٥% وامزج قليلا وبلطف .	تحضير المعلق .
٣.	غط قطرة المعلق بغطاء الشريحة وتفحص تحت المجهر مستخدما العدسات الجافة .	للحفظ والحصول علـــى ســـمك ثابت للمعلق والمشاهدة.
٤.	ابحث عن وجود الغصينات الفطرية mycelium وبخاصة في العينات المباشرة وعـــن الخمـــيرة والغصينات في عينات النمو .	قراءة النتيجة .
٥.	قارن ما تراه تحت المجهر بلوحة توضح أشكال الغصينات والخميرة مقرونة بأسمائها.	لتشخيص النوع .

الكفاية العملية -١٩-

دراسة زراعة نقية للعفن وخميرة Candida

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات دراسة نمو نقي للعفن وخميرة Candida من حيث:

أ. الصفات الشكلية.

ب. الصفات الزراعية.

جـ. الصفات الكيميائية الحيوية.

المبدأ:

يعتمد على معرفة الصفات الشكلية والزراعية والكيميائية الحيوية وفحوصات خاصة أخرى .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- مواد طريقة جرام في الصبغ.
- شرائح زجاجية وأغطية شرائح.
- KoH أوNaoH
- أوساط زراعية Chrom-Agar و SDA
- أوساط سكرية.
- مواد تجربة الأنبوب الجرثومي Germ tube test
- سلك الحقن.

الرقم	الخطوات	المبررات
	الخميرة Yeast:	
	أ. الصفات الشكلية:	
١.	حضر معلق من نمو الخميرة مع ١٠-١٥% KoH أو NaoH وغطه بغطاء الشريحة.	لمشاهدة شكل وحجم الخلايا ووجود البراعم .
٢.	تفحص الشكل تحت العدسة ١٠ ثم ٤٠	لاحظ وجود خلايا بيضاوية كبيرة مع أو بدون براعم.
٣.	حضر لطخة على شريحة واصبغها بطريقة جرام. وتفحص تحت العدسة الزيتية .	لمعرفة تفاعلها مع صبغة جرام حيث تظهر ايجابية.
	ب. الصفات الزراعية:-	
١.	أحقن النمو موضوع الدراسة على الأوساط Agar . Blood Ager .SDA-Chrom بطريقة التخطيط واحضن تحت درجة حرارة الغرفة أو ٣٧ منوية لليوم التالي.	للحصول على مستعمرات منفردة ودراسة صفات المستعمرات على كل وسط. لأن Candida albicans تعطي صفات مستعمرات مميزة على هذه الأوساط يسهل بها تشخيصها والتعرف عليها.
٢.	خذ الصفات الزراعية وسجلها ولاحظ لون المستعمرات على Agar-chrom للتمييز بين أنواع Candida المختلفة.	

	جـ. الصفات الكيميائية الحيوية: احقن النمو موضوع الدراسة في أوساط سكرية مختلفة وسجل نتائجها.	لمعرفة السكريات التي تخمر بفعل ال Candida
	د. تجارب خاصة: **إجر تجربة الأنبوب الجرثومي**	لتمييز Candida albicans في حالة ظهور النتيجة ايجابية.
  ١. ٢.	**فطر العفن fungi(molds)** **- الصفات الشكلية:** حضر معلق للعفن بأخذ جزء من الغصينات بوساطة ملقط معقم أو دبوس وضعه على قطرة من ١٠-١٥% NaoH، KoH وغطه بغطاء الشريحة وشاهد تحت المجهر مستخدما العدسة ١٠ ثم ٤٠ قارن ما تراه تحت المجهر بالرسومات واللوحات الخاصة بالفطريات.	 لمشاهدة شكل وترتيب الأبواغ الفطرية والغصيات. وللتعرف على نوع الفطر المراد تشخيصه.
 ١ . ٢ . ٣ . ٤ .	**- الصفات الزراعية:-** خذ جزء من الغصينات وضعه على سطح وسط صلب مثل SDA مصبوب في أنبوب اختيار. احكم إغلاق الأنبوب واحضنه تحت درجة حرارة الغرفة لعدة أيام. راقب نمو الفطر وسجل صفاته الزراعية من حيث شكل النمو ولونه. قارن ما تراه في أنبوب الوسط بالرسومات واللوحات الخاصة بالفطريات.	 الحقن في الوسط المناسب لتوفير شروط النمو. لمنع حدوث جفاف في الوسط ومنع تلوثه للتعرف على نوع الفطر المراد تشخيصه من خلال صفاته الزراعية.

الكفايـــة العمليـــة -٢٠-

اجراء تجربة الانبوب الجرثومي Germ Tube Test لتشخيص (C.albicans)

الـــهدف :

١.ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تجربة الانبوب الجرثومي .
٢.ان يكون الطالب قادرا على التحقق من ان الخميرة الناميـــة هـــي (c.albicans) Germ Tube Test

المبــدأ:

تتنج ســلالات (SNACIBLAC). دنـع ةريمـخلا اـهعضو ـايلاخ ـنم ـايموثرج ـــابوبنأ)
وضعها في وسط ســـائل تحـت درجـــة ٣٥ م لمـدة ٣ سـاعات .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- نمو الخمـــيرة موضـــوع الفحـــص
- انبوب اختبـــار
- قطـــارة
- مصل حديـــث
- شريحة زجاجية مع غطاء شريحة
- حاضنـــة
- مجـــهر

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ازرع الخميرة على وسط يحوي البيبتـون واحضن لليوم التالي.	للحصول على نمـــو حديـــث.
.٢	خذ ٠,٥ ملل من النمـــو فـــي الوســـط السائل في انبوب اختبار واضف اليـــه ١ ملل من مصل انسان او حصان محضر حديثا.	لجمـــع المتفـــاعلين مــــــع بعضـــــهما البعـــض.
.٣	احضـــن الانبـــوب تحـــــت درجـــــة ٣٥-٣٧ م.	لاعطـــاء الخمـــيرة ظـــرف مناســـــب لتكوين انبـــوب جرثومـــي.
.٤	ضع قطرة من محتوى الانبـــوب علـــى شريحة زجاجية نظيفة بعد كل نصــــف ساعة وتفحصها مجهريا.	عمل تحضـــير رطـــب للفحـــص.
.٥	لاحـــظ تكـــون انبـــــوب جرثومـــــي منبثق من خليـــة الخمـــيرة.	ليـــدل ذلـــك علـــى ان الخمـــيرة هـــــي c.albicans

الكفاية العملية -٢١-

طريقة Ziehl– Neelsen في الصبغ

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بـ :

١. صبغ العينات بطريقة Z.N.

٢. تشخيص عصيات السل او العصيات المقاومة للحامض Acid Fast Bacilli (AFB) .

المبدأ:

من المعلوم ان عصيات السل او AFB لا تصبغ بسهولة واذا صبغت فانه من الصعب ازالة الصبغة منها لذلك تعرض اللطاخة البكتيرية للحرارة حتى تتمكن الصبغة من الاختراق حتى تصل جدار الخلية ثم يزال مصدر الحرارة، وبذلك تغلق المسامات الدهنية على الصبغة الداخلة وهذا لا يحدث مع البكتيريا غير المقاومة للحامض Non-AFB بحيث ان اضافة الحامض سيزيل الصبغة من البكتيريا غير المقاومة فقط ولذلك تتلون الاخيرة بلون الصبغة البديلة (المضادة) Counterstain وتتلون الاولى (AFB) بلون صبغة Z.N. الزهرية.

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- صبغة Z.N. وهي عبارة عن Carbol Fuchsin
- حامض كبريتيك تركيز ٢٠%
- كحول ايثيلي تركيز ٩٥%
- صبغة مضادة Counter Stain مثل المثيل الازرق Methylene blue
- شرائح زجاجية وسلك الحقن ومحلول ملحي طبيعي
- لهب زيت غمر
- مجهر
- ورق ترشيح

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر لطخة البكتيرية على شريحة زجاجية نظيفة وجففها وثبتها.	لتجهيز البكتيريا للصبغ
٢.	اغمر الشريحة في صبغة Z.N. وصفيه وسخن تحت الشريحة حتى يتصاعد البخار، ثم انتظر لمدة خمس دقائق .	التسخين لفتح مسامات في الطبقات الدهنية لكي تتمكن الصبغة من الدخول .
٣.	اغسل الشريحة بماء الحنفية	للتخلص من الصبغة الباقية.

	الجاري الـــــهاديء.	
.٤	اغمـــر الشـــريحة فـــي ٢٠% حـــامض كـــبريتيك لمـــدة دقيقـــة تقريبـــا حتـــى يتغـــير اللـــون الاحمـــر الـــى بنـــي مصفـــر.	لازالـــة الصبغـــة مـــن البكتيريـــا غـــير المقاومـــة للحـــامض Non-AFB.
.٥	اغســـل الشـــريحة بالمـــاء واغمـــر الشـــريحة فـــي الحـــامض مـــرة اخرى، كـــرر العمليـــة حتـــى تصبـــح اللطخة ذات لـــون زهـــري فـــاتح.	لاعطـــاء فرصـــة لحـــامض جديـــد للقيـــام بازالـــة الصبغـــة والتـــأكيد على هذه الخطـــوة.
.٦	اغســـل الشـــريحة بمـــاء الحنفيـــة الهادىء جيـــدا.	للتخلص من بقايـــا الحـــامض
.٧	اغمـــر الشـــريحة فـــي ٩٥% كحـــول ايثيلي لمـــدة دقيقتيـــن .	خطـــوة تأكيديـــة لخطـــوة اضافـــة الحـــامض.
.٨	اغســـل الشـــريحة جيـــدا بالمـــاء ثـــم اغمرها فـــي الصبغـــة البديلـــة ولمـــدة ١٥-٢٠ ثانيـــة.	للتخلص مـــن بقايـــا الكحـــول ثـــم لصبـــغ البكتيريـــا التـــي ازيلـــت الصبغة منـــها بوســـاطة مزيـــلات الاصبـــاغ المســـتخدمة (الحـــامض والكحـــول).
.٩	اغسل الشريحة وجففـــها بوســـاطة ورق ترشيح ثم اضف قطرة من زيت الغمـــر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدســـة الزيتية .	للتخلـــص مـــن بقايـــا الصبغـــة البديلة ثم للتخلص مـــن المـــاء ثـــم لتجـــهيزها لاســـتخدام العدســـة الزيتية فـــي المجـــهر.
.١٠	ابحـــث عـــن عصيـــات رفيعـــة وطويلـــة بلـــون احمـــر لتـــدل علـــى وجـــود AFB.	وجود العصيات الرفيعـــة الحمـــراء دلالة على وجود العصيات المقاومـــة للحامض سواء عصيـــات الســـل او غيرها.

الكفاية العملية -٢٢-

طريقة Neisser في الصبغ

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على :

١. القيام بصبغ البكتيريا بطريقة Neisser

٢. تمييز حبيبات الدفتيريا.

المبدأ :

تتقبل عصيات الدفتيريا اللون الاحمر من محلول Neutral red بينما لا تتقبله حبيبات الدفتيريا وانما تتقبل صبغة الميثيل الازرق Methylene blue وتظهر باللون الازرق داخل الخلايا العصوية للدفتيريا.

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- شرائح زجاجية ومحلول ملحي طبيعي
- سلك الحقن Wire loop
- صبغة الميثيل الازرق Neisser's Methylene blue
- محلول اليود
- محلول Neutral red
- مجهر
- زيت غمر
- ورق ترشيح

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر اللطخة البكتيرية وجففها وثبتها.	لتجهيز البكتيريا للصبغ
٢.	اغمر الشريحة في صبغة الميثيل الازرق لمدة دقيقتين –ثلاث دقائق.	لصبغ حبيبات الدفتيريا
٣.	اغسل بمحلول اليود المخفف .	لتثبيت الصبغة السابقة.
٤.	اغسل بالماء	للتخلص من بقايا المحاليل
٥.	اغمر الشريحة في محلول Neutral red ولمدة ٣ دقائق.	لصبغ اجزاء الخلية المتبقية (الخلفية) أي صبغة بديلة.
٦.	اغسل الشريحة وجففها بوساطة ورق الترشيح .	للتخلص من بقايا الصبغة ثم الماء.
٧.	ضع قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية.	لتجهيز الشريحة لاستخدامها تحت المجهر.
٨.	لاحظ وجود حبيبات بلون ازرق داخل الخلية الحمراء.	وجود الحبيبات الزرقاء دلالة على ان البكتيريا هي عصيات الدفتيريا.

الكفاية العملية -٢٣-

التعرف على انواع الاوساط الزراعية المختلفة المحضرة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تمييز انواع الاوساط الزراعية الصلبة المحضرة مجرد النظر اليها كلما امكن ذلك ويشمل :

Sensitivity Agar, EMB, MacConkey's Agar, Nutrient Agar, Blood Agar, TCBS, DCA, TSI, MSA, SDA, Chocolate Agar

المبدأ :

يعتمد ذلك على المعرفة الأكيدة لمظهر ولون كل وسط يمكن التعرف عليه من خلال ذلك.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اوساط زراعية صلبة محضرة ومصبوبة في اطباق بتري او انبوب اختبار.
- قلم وسم.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	حضر جميع الاوساط الزراعية المذكورة في الهدف حسب تعليمات الشركة الصانعة واكتب على الاطباق اسماء الاوساط.	تمهيدا للتدرب على تمييزها
.٢	امعن النظر في اطباق كل نوع من الاوساط المحضرة لتميز مظهر كل نوع.	لتتعرف على مميزاتها من حيث اللون والمظهر العام.
.٣	اخف اسم الوسط على الطبق ثم حاول التعرف على كل نوع.	لاجراء اختبار.
.٤	اكشف الاسم حتى تتحقق من صحة تخمينك.	حتى تتحقق من صحة تخمينك
.٥	كرر العملية أكثر من مرة.	حتى تصبح الاوساط مألوفة اليك.

الكفاية العملية -٢٤-

اجراء فحص تخمير السكريات مثل (الجلوكوز والسكروز واللالتوز والمانتول والزايلوز... الخ). Sugars Fermentation

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص تخمير السكريات وقراءة النتائج.

المبدأ :

تقوم البكتيريا بتحطيم بعض السكريات وانتاج أحماض وغازات قادرة على تغيير الوسط وتغيير لون الكاشف ويعتمد ذلك على انتاج البكتيريا للانزيمات اللازمة للقيام بعمليات التحطيم (الهدم) هذه.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اوساط سكرية مختلفة (وسط زراعي صلب + سكر + كاشف).
- سلك حقن Wireloop
- بكتيريا الفحص
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	احقن انابيب السكريات المختلفة بالنمو البكتيري المراد فحصه بوساطة سلك الحقن بطريقة الطعن Stab	لفحص مقدرة البكتيريا على تخمير السكر.
.٢	ضع الانابيب في الحاضنة لمدة ٢٤ ساعة تحت ٣٧م.	لاعطاء الاجواء والوقت المناسبين للنمو وممارسة النشاط.
.٣	تفحص انابيب السكريات من حيث تغير لون الكاشف ليدل على النتيجة الايجابية.	تغير لون الكاشف بسبب تخمير السكر من قبل البكتيريا وانتاج الحامض.
.٤	تفحص صعود الوسط الصلب الى اعلى الانبوب.	ليدل على انتاج الغاز.

الكفاية العملية -٢٥-

اجراء فحص Methyle Red Test

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص MR وقراءة النتيجة.

المبدأ :

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على تخمير الجلوكوز و انتاج كمية من الحامض كافية لتغيير لون الكاشف MR حيث يصل الـ PH إلى أقل من ٤,٥

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- الوسط السائل Glucose phosphate peptone water
- النمو المراد فحصه.
- سلك الحقن Wire-loop
- حاضنة
- محلول الكشف Methyl Red مع قطارة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن الوسط السائل الخاص بالفحص بالنمو اليانع Young Culture.	لأنه نمو نشيط قادر على اظهار صفاته بشكل جيد.
٢.	ضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٤٨ ساعة .	لاعطاء فترة تخمير البكتيريا للجلوكوز.
٣.	اضف خمس قطرات من محلول Methyl Red وامزج جيدا.	للكشف عن الحامض الناتج عن التخمير.
٤.	خذ النتيجة حالا حيث انه اذا ظهر اللون الاحمر اللامع دل على النتيجة الايجابية. اما اذا ظهر اللون الاصفر فتكون النتيجة سلبية.	تغير لون الكاشف الى اللون الاحمر في وجود الحامض والى اللون الاصفر في عدم وجود الحامض.
٥.	مدد فترة الحضانة اذا ظهر لبس في النتيجة ثم اعد الكشف عن النتيجة بعد ٥ ايام من اول حضانة.	لاعطاء فرصة اخرى لمزيد من تخمير البكتيريا للجلوكوز و انتاج كمية كافية من الحامض لاظهار نتيجة ايجابية.

الكفايـــة العمليـــة -٢٦-

Proskauer Test (V.P.)–Voges اجراء فحص

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـــادرا علـــى اجـــراء فحـــص VP وقـــراءة النتيجـــة.

المبـــدأ :

تظـــهر هـــذه التجربـــة قـــدرة البكتيريـــا علـــى تخمـــير الجلوكـــوز وانتـــاج Acetyl methyl Carbinol و 2,3 Butylene Glycol والتـــي تنتـــج لونـــا زهريـــا أو أحمـــرا فـــي وجـــود Alpha-naphthol فـــي وســـط قـــاعدي . إن انتـــاج هذيـــن المركبيـــن يكـــون نتيجـــة لعـــدم تراكـــم كميـــات كافيـــة مـــن الحـــامض خـــلال التخمـــير قـــادرة علـــى تغيـــير لـــون الكاشـــف MR، ولذلـــك فـــإن نتـــائج فحصـــي MR و VP ســـتكون متغـــايرة .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- وســـط ســـائل Glucose phosphate peptone water
- النمو المـــراد فحصـــه
- ســـلك الحقـــن Wire-loop
- حاضنـــة
- محلـــول الكشـــف ٤٠% محلـــول KOH و ٥% α-naphthol فـــي ايثـــانول مركـــز .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	احقـــن الوســـط الســـائل الخـــاص بـــالفحص بـــالنمو اليـــانع Young Culture.	لانـــه نمـــو نشـــيط قـــادر علـــى اظهار صفاته بشـــكل جيـــد.
.٢	احضـــن تحـــت ٣٧م او ٣٠م لمـــدة ٤٨ســـاعة.	لاعطـــاء فـــترة لتخمـــير البكتيريـــا للجلوكـــوز .
.٣	اضف إلى انبـــوب الفحـــص ١ ملـــل مـــن ٤٠% محلـــول هيدروكســـيد البوتاســـيوم و ٣ ملـــل مـــن ٥% مـــن محلـــول α-naphthol فـــي ايثـــول مركـــز .	للكشـــف عـــن وجـــود نواتـــج التخمير وهـــي: Acetyl Mehtyl Carbinol & 2,3 Butylene Glycol
.٤	اقـــرأ النتيجـــة، ان ظـــهور اللـــون الزهـــري خـــلال ٢-٥ دقـــائق يـــدل علـــى النتيجـــة الايجابيـــة.	

الكفايـــة العمليـــة -٢٧-

اجراء فحص Indole

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـــادرا علـــى اجـــراء فحـــص الـــ Indole وقـــراءة النتيجـــة.

المبـــدأ :

تظـــهر هـــذه التجربـــة قـــدرة البكتيريـــا علـــى تحليـــل الحـــامض ENAHPOTPYRT الأمينـــي وانتـــاج الانـــدول الـــذي ســـينتج لونـــا أحمـــرا فـــي وجـــود الالديـــهايد، يمكـــن اســـتبدال محـــلول kovac بمحـــلول Ehrlich ككاشـــف .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- وسط سائل يحوي Tryptophane مثل Peptone water .
- ســـلك حقـــن Wire-loop.
- محـــلول كاشـــف Kovac
- حاضنـــة.
- قطـــارة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن الوسط بالبكتيريـــا المـــراد فحصـــها.	للتنميـــة بممارســـة النشـــاط الحيـــوي.
٢.	احضـــن لمـــدة ٤٨ ســـاعة تحـــت درجـــة ٣٧م.	لاعطاء فرصـــة مناســـبة لتحويـــل البكتيريـــا للحـــامض الامينـــي Tryptophane الـــى Indole
٣.	اضـــف ٠,٥ ملـــل مـــن محـــلول kovac وحرك بلطـــف.	للكشف عـــن وجـــود Indole .
٤.	خـــذ النتيجـــة حيـــث ان ظـــهور اللـــون الاحمر دلالة علـــى النتيجـــة الايجابيـــة.	

الكفاية العملية -٢٨-

اجراء فحص Catalase

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص Catalase وقراءة النتيجة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- النمو البكتيري المراد فحصه.
- محلول فوق اكسيد الهيدروجين.
- شريحة زجاجية.
- قطارة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع قطرة من محلول فوق اكسيد الهيدروجين H_2O_2 على شريحة زجاجية.	محلول كاشف.
٢.	خذ مستعمرة بكتيرية بوساطة سلك الحقن وضعها على قطرة المحلول.	للكشف عن انتاج البكتيريا لانزيم Catalase.
٣.	لاحظ ظهور فقاعات هواء فورا ليدل على النتيجة الايجابية.	تحليل انزيم Catalase للمحلول يؤدي الى تصاعد فقاعات الاكسجين.

الكفايـــة العمليـــة -٢٩-

اجراء فحص Oxidase

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـــادرا علـــى اجـــراء فحـــص Oxidase وقـــراءة النتيجـــة.

المبـــدأ:

تظـــهر هـــذه التجربـــة قـــدرة البكتيريـــا علـــى انتـــاج انزيـــم اللقيـــم tetramethyl p-phenyline diamine ويكون في النهاية مركب indophenol بنفسجي اللـــون وقد استخدمت هذه التجربة لتشخيص neisseria و pseudomonas .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- نمو بكتـــيري علـــى وســـط مناســـب مثـــل Chocolate Agar.
- محلـــول Tetramethyl p-phenylene diamine
- قطـــارة

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اضف قطرة من ١% محلول Tetramethyl p-phenylene diamine على مستعمرات النمو المراد فحصها والمزروع على Chocolate Agar عادة.	محلول كاشـــف.
.٢	لاحـــظ ظـــهور اللـــون البنفســـجي الداكـــن ليدل على النتيجـــة الايجابيـــة.	انتـــاج البكتيريـــا لانزيـــم Oxidase ســـيقوم بأكســـدة المحلـــول وتحويـــل اللـــون الـــى البنفسجي الداكـــن.

الكفاية العملية -٣٠-

اجراء فحص Citrate

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص Citrate وقراءة النتيجة.

المبدأ:

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على الاستفادة من ETARTIC كمصدر وحيد للطاقة والنمو واصلاح الأمونيوم كمصدر وحيد للنيتروجين، ولأن التفاعل يحتاج إلى اكسجين يجب حقن البكتيريا على سطر وسط صلب في طبق بتري أو انبوب اختبار غير محكم الاغلاق، يدل تغير اللون من الأخضر للأزرق على انتاج الاستيت acetate ومنتجات كربونات قاعدية أخرى .

الاجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- Simmon's Citrate Agar
- سلك الحقن Wire-loop
- حاضنة
- البكتيريا المراد فحصها.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	احقن الوسط الزراعي بالبكتيريا المعنية.	حتى تفحص قدرة البكتيريا على الاستفادة من Citrate كمصدر وحيد للنمو والطاقة.
.٢	ضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤-٩٦ ساعة.	لتزويد البكتيريا بالظروف المناسبة.
.٣	لاحظ ظهور لون ازرق مع خطوط النمو ليدل على النتيجة الايجابية. وإذ بقي	تغير لون الكاشف Bromothymol blue بسبب انتاج acetate .
.٤	اللون الاخضرويدل على النتيجة السلبية.	عدم الاستفادة من citrate وبالتالي عدم انتاج acetate وغيرها يبقي اللون الأخضر .

الكفايـــة العمليـــة -٣١-

اجراء فحص Coagulase على الشريحة.

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـــادرا علـــى اجــراء فحــص الــــ Coagulase وقــراءة النتيجـــة.

المبـــدأ :

تظهر هذه التجربـــة قـــدرة البكتيريـــا علـــى انتـــاج انزيـــم ESALUGAOC الـــذي يحـــول FIBRINAGON الموجود في البلازما إلى Fibrin، وقد استخدمت هذه الصفة لتحديد إمراضية المكورات العنقودية.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- النمـــو البكتـــيري للمكـــورات العنقوديـــــة Staphylococcus
- بلازمـــا
- محلول ملحــــي طبيعـــي
- ســلك حقـــن Wireloop
- قطـــارة
- شريحة زجاجيـــة + عـــود خشـــبي

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ضع على احد طرفي شريحة زجاجيـــة نظيفـــة قطرة بلازما وعلى الطرف الثاني قطـــرة مـــن محلول ملحي طبيعي N.S.	قطرة الفحـــص والضـــابط الســـلبي Negative Control
.٢	اضف قطرة مـــــن معلـــق بكتيريـــا الفحـــص الى كل مـــن القطرتيـــن.	لمـــزج المتفـــاعلين البكتيريــــا المتمثلـــــة للانزيــــم والبلازمــــا الممثلـــــة (fibrinogen)
.٣	امزج جيـــدا بوســـاطة عـــود خشـــبي بحيـــث لا تســـتعمل رأس العـــود للقطرتيـــن.	لكي تتمكن البكتيريا المنتجة لانزيـــم Coagulase مــــــن تحويــــــل Fibrinogen الى Fibrin
.٤	حرك الشريحة وانتظر لدقيقتيـــن الـــى ثـــلاث دقائق.	لاعطاء فرصة لحدوث التفاعل .
.٥	لاحظ حدوث التخثر مع قطرة البلازما بتكـــون رواسب بيضاء وعدم حدوث ذلك مـــع قطـــرة المحلول الملحي.	بسبب تكـــون الــــ Fibrin

الكفاية العملية -٣٢-

اجراء فحص Urease

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص urease وقراءة النتيجة.

المبدأ:

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على انتاج انزيم Urease الذي يحلل اليوريا الموجودة في الوسط وينتج الأمونيا التي ستغير لون الكاشف Phenolred الموجود في الوسط إلى اللون البنفسجي إلى الزهري .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسط مناسب لنمو البكتيريا ويحتوي كاشفا (PhenolRed) ويوريا مثل Christensen's Agar Media
- سلك نقل Wire-loop
- النمو البكتيري المراد فحصه
- حاضنة

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	احقن البكتيريا المراد فحصها بكثافة على سطح الوسط الخاص بالفحص والموجود في انابيب اختبار.	لاحداث لقاء بين المتفاعلين البكتيريا ممثلة لانزيم urease والوسط ممثلة Ureau .
.٢	ضع الانبوب في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.	لتزويد البكتيريا بالظرف المناسب للقيام بالنشاط الحيوي.
.٣	لاحظ ظهور لون بنفسجي الى زهري دليل على النتيجة الايجابية.	تغير لون الكاشف Phenol Red بسبب تكون الامونيا.
.٤	لا تتخلص من الانابيب معطيا نتيجة سلبية قبل مضي ٤ ايام من الحضانة.	لاعطاء فرصة مناسبة للبكتيريا غير النشيطة في انتاج انزيم urease.

الكفايـــة العمليـــة -٣٣-

اجراء فحص الذائبية في املاح الصفراء Bile Solubility Test

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجـــراء فحـــص الذائبيـــة فـــي الصفـــراء وقـــراءة النتيجـــة.

المبـــدأ:

من المعروف أن نمـــو البكتيريـــا فـــي الوســـط السائل يظـــهر علـــى شـــكل عكـــورة وفـــي حالة المكـــورات الرئويـــة فإنـــها تتحلـــل فـــي وجـــود أمـــلاح صفـــراء وتتحـــول العكـــورة إلـــى صفـــاء بسبب زيـــادة نشاط الانزيمـــات الحـــافزة لتحليـــل جدارهـــا الخلـــوي. والأصـــل أن صفـــة التحلـــل موجـــودة فـــي المكـــورات الرئويـــة ولكنـــها تـــزداد وتتسـارع في وجود أمـــلاح الصفـــراء .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- بكتيريا الفحـــص
- وسط ســـائل
- محلـــول ١٠:١ مـــن Na-desoxycholate
- ســـلك حقـــن Wireloop
- قطـــارة
- حاضنـــة

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	احقـــن البكتيريـــا المـــراد فحصـــها فـــي انبـــوب وســـط ســـائل واحقـــن لمـــدة ٢٤ ساعة تحـــت درجـــة ٣٧م.	تنمية بكتيريـــا الفحـــص.
.٢	اضف قطرتيـــن الـــى اربـــع قطـــرات مـــن محلـــول مخفـــف ١٠:١ Na-desoxy cholate الـــى ٥ ملـــل مـــن النمـــو السائل.	لفحـــص قـــدرة الصفـــراء علـــى تحليل الخلايـــا البكتيريـــة.
.٣	ضـــع الانبـــوب لمـــدة ١٠-١٥ دقيقـــة فـــي الحاضنة تحـــت درجـــة ٣٧م.	فـــترة حضانـــة وجـــو مناســـب للتفـــاعل.
.٤	لاحظ حـــدوث صفـــاء فـــي الانبـــوب ليـــدل علـــى ان البكتيريـــا المزروعـــة هـــي المكـــورات الرئويـــة Pneumococcus	حـــدوث تحلـــل للخلايـــا وذهـــاب العكورة وظـــهور الصفـــاء.

الكفاية العملية -٣٤-

اجراء فحص Quellung Test لتشخيص انواع المكورات الرئوية Pneumococci

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص Quellung وقراءة النتيجة.

المبدأ :

يحدث انتفاخ في المحفظة CAPSULE بشكل واضح عندما تتفاعل مع أجسام مضادة متخصصة بها ويحدث هذا في المكورات الرئوية وفي H. influenzae type .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مصل يحوي أجسام مضادة متخصصة
- بنمو المكورات الرئوية المشتبه بها .
- قطارة .
- مجمد.
- غطاء شريحة .
- انبوب اختبار .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اضف اليها قطرة من معلق النمو البكتيري من Pneumococci المراد فحصه أو غيره.	لحدوث تفاعل بين الاجسام المضادة والمحفظة اذا كان هناك تخصصية.
.٢	امزج جيدا وتفحص حدوث انتفاخ في المحفظة مجهريا ليدل على النتيجة الايجابية.	نواتج التفاعل بين المحفظة والاجسام المضادة.
.٣	ان ظهور انتفاخ في المحفظة يدل على نوع البكتيريا المفحوصة من خلال معرفتنا لنوع الاجسام المضادة المضافة.	بسبب تخصصية التفاعل بين الانتجين والجسم المضاد.

الكفايـــة العمليـــة -٣٥-

اجراء فحص اسالة الجيلاتين Gelatin Liquefaction

الـــهـدف :

ان يكون الطالب قادرا علـــى اجــراء فحـــص اســـالة الجيلاتيـــن وقـــراءة النتيجـــة.

المبــدأ:

تظــهر هــذه التجربـــة قـــدرة البكتيريـــا علـــى انتـــاج انزيمـــات حالـــة للبروتينـــات مثــــل الجيلاتيـــن بحيـــث عنـــد تنميـــة البكتيريـــا المحللـــة للـــبروتين فـــإن الوســـط يفقـــد صلابتـــه ويتحول إلى ســـائل بفعـــل الانزيمـــات المحللـــة للـــبروتين .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- الوسط الجيلاتيني Nutrient Gelatin
- سـلـــك الحقـــن Wire-loop
- حاضـــنة
- ثلاجـــة

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقـــن انبـــوب يحـــوي وســـط الجيلاتيـــــن بالبكتيريـــا المـــراد فحصـــها بوســـاطة ســـلك الحقـــن.	بكتيرية الفحـــــص
٢.	ضـــع فـــي الحاضـــنة تحـــت درجـــــة ٣٧م لمـــدة ٢٤-٤٨ ســـاعة او تحـــــت درجـــــة ٢٤م لنفس المـــــدة.	لاعطـــــاء البكتيريـــــا فرصـــــة مناســـبة لانتـــاج انزيمـــات حالـــة للـــبروتين.
٣.	انقـــل الانبـــوب مـــن درجـــة ٣٧م لدرجـــــة ٤م لمـــدة ٣٠ دقيقـــة.	للتـــأكد مـــن ان الاســـالة انزيميـــة وليست حراريـــة.
٤.	خذ النتيجة بملاحظـــة بقـــاء الســـيلان رغـــم التـــبريد فـــي الانبـــوب الاول كـــاملا لـيـــدل على النتيجـــة الايجابيـــة او ظـــهور ســـيلان علـــى طـــول خـــط الحقـــن فـــي الانبـــــوب المحضـــون بدرجـــة ٤م.	للتميـــيز بيـــن الاســـالة الحراريـــة والانزيميـــة.

الكفاية العملية -٣٦-

إجراء فحص إنتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S production

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء فحص إنتاج كبريتيد الهيدروجين وقراءة النتائج.

المبدأ :

تمتلك بعض أنواع البكتيريا قدرة على تحليل الكبريت الموجود في بعض الأحماض الأمينية وتكوين كبريتيد الهيدروجين ويكشف عن ذلك بتكوين ملح كبريتي اسود اللون غير قابل للذوبان.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- وسط زراعي محتوي على حامض أميني محتوي على كبريت مثل
- Gelatin Nacl , peptone, Meat extract.
- حاضنة.
- سلك الحقن.
- نمو بكتيري.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر الوسط الزراعي في أنبوب اختبار.	وسط التجربة.
٢.	خذ كمية جيدة من النمو النقي بوساطة سلك الحقن و اطعن الوسط الزراعي.	لتنمية البكتيريا وتزويدها بالظروف المناسبة.
٣.	ضع أنبوب الوسط في الحاضنة لليوم التالي أو الذي يليه (٢٤-٤٨ ساعة).	لتنشيط البكتيريا على النمو وممارسة النشاط الحيوي.
٤.	تفحص الأنبوب لأخذ النتيجة.	ظهور اللون الأسود مؤشر للنتيجة الإيجابية و عدم ظهوره دليل على النتيجة السلبية.

الكفاية العملية -٣٧-

إجراء فحص إزالة مجموعة الأمين من الحامض الأميني فينايل ألانين

Phenylalanine Deaminase Test

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على إجراء فحص Phenylalanine deaminase وقراءة النتائج.

المبدأ:

تستطيع بعض أنواع البكتيريا إزالة مجموعة الأمين من الحامض الأميني Phenylalanine منتجة Phenyl pyruvic acid والذي بدوره يتفاعل مع أملاح الحديد التي ستضاف للوسط الزراعي ليظهر اللون الأخضر وتتم العملية بسبب إنتاج أنزيم deaminase من قبل البكتيريا.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- الوسط المناسب المحتوي على الحامض الأميني phenylalanine
- النمو البكتيري النقي.
- سلك حقن.
- حاضنة.
- محلول كلوريد الحديد تركيز ١٠%.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر الوسط في أنابيب اختبار وأحقنها بكمية كبيرة من النمو البكتيري النقي.	لتنمية البكتيريا على الوسط.
٢.	احضن تحت ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.	لتنشيط النمو بتزويدها بالظروف المناسبة.
٣.	أضف قطرات من ١٠% محلول كلوريد الحديد إلى النمو الموجود فوق الوسط.	محلول كاشف عن وجود phenyl pyruvic acid
٤.	لاحظ تكون اللون الأخضر.	دلالة على النتيجة الإيجابية.

الكفاية العملية -٣٨-

تجربة اختزال النيترات Nitrate Reduction Test

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء فحص اختزال النيترات وقراءة النتائج.

المبدأ:

يكشف هذا الفحص عن قدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم Nitrate reductase الذي يختزل No3 ويحوله إلى No2 الذي يظهر في وجود المحلول الكاشف.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- النمو البكتيري النقي.
- وسط الزراعة المحتوي على نيترات البوتاسيوم KNO_3
- حاضنة.
- سلك الحقن.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر الوسط في أنبوب اختبار واحقنه بالنمو البكتيري النقي بوساطة سلك الحقن.	لتنمية البكتيريا على الوسط المناسب.
٢.	ضع الأنبوب في الحاضنة لمدة ٣-٤ دقائق.	لتنشيط النمو بتزويدها بالظروف المناسبة.
٣.	حضر محلول الكشف كما يلي: - أذب ٨ جرام من Sulphanilic acid في واحد ليتر من حامض الخليك N5 - أذب ٥ جرام من Naphthy lamine في واحد لتر من حامض الخليك N5 ج-امزج حجمين متساويين من المحلولين أ و ب.	لاستخدامه للكشف عن النتيجة.
٤.	أضف ١ ملل من محلول التجربة إلى النمو ولاحظ تكون اللون الأحمر.	لإعطاء محلول التجربة (الكاشف) مؤشر النتيجة الإيجابية لتكوين No2

الكفايــــة العمليــــة -٣٩-

اجراء فحص Motility Indole Ornithine Test (MIIO)

الـــهدف :

ان يكون الطـــالب قـــادرا علىاجـــراء فحـــص MIO وقـــراءة النتيجـــة .

المبــدأ :

يكشف هـــذا الفحـــص صفـــة الحركـــة عنـــد البكتيريـــا بانتشـــارها فـــي الوســـط علـــى شـــكل عكـــورة وقدرتـــها علـــى اســـتخدام الحـــامض الاميـــني Tryptophane وانتـــاج الأنـــدول الـــذي يكشـــف عنـــه بتكـــون حلقـــة حمـــراء عنـــد اضافـــة الديـــهايد مثـــل محلـــول Kovac ، وكذلـــك قدرتـــها علـــى الاســـــتفادة مـــــن الحـــامض الاميـــني Ornithine وانتـــاج مـــواد امينيـــة قاعديـــة تحـــول اللـــون الـــى البنفســـجي ، امـــا ظهور اللـــون الاصفـــر فانـــه دلالـــة علـــى انتـــاج الحـــامض مـــن تخمـــير الجلوكـــوز وعـــدم اســـتفادة البكتيريـــا مـــن Ornithine .

الاجـــهزة والمـــواد والادوات اللازمـــة :

- انابيب تحتوي الوسط MIO شبه الصلب.
- بكتيريا الفحص المعزولة في نمو نقي .
- سلك الحقن بدون حلقة .
- حاضنة ولهب بنسون .
- محلول Kovac

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خـــذ قليـــلا مـــن النمـــو النقـــي بوســـاطة ســـلك الحقـــن المعقـــم باللـــهب واطعـــن انبـــوب الوســـط الزراعـــي مدخـــلا السلك لى اخـــر الانبـــوب.	حتـــى تســـتطيع البكتيريـــا النمـــو فـــي الوســـط وممارســـة نشـــاطها الحيـــوي.
٢.	ضـــع انبـــوب الوســـط فـــي الحاضنـــة تحت درجـــة ٣٥-٣٧م لليـــوم التـــالي .	للـــتزويد بـــالظروف المناســـبة للنمـــو.
٣.	خذ النتيجة بالطريقة التالية : **أ-الحركة :** اذا ظهرت عكورة منتشرة في الوســـط دل ذلـــك على النتيجـــة الايجابيـــة أي ان البكتيريا متحركـــة، واذا ظهرت عكـــورة على طول خط الحقن فقـــط دل ذلك على النتيجة السلبية أي ان البكتيريـا	لأن البكتيريـــا المتحركـــة تتحـــرك باتجاهات مختلفة في الوسط ولـــذلك تظهر العكورة عامة في الوسط، امـــا ظهـــور العكورة على طـــول خـــط الحقن فقط فيدل على النمو فقط.

	غير متحركة.	
	ب-الاندول Indole :	
	اضف عدة قطرات من محلول Kovac الـــى الوسط فإذا تكونت حلقة حمراء دل ذلك على النتيجة الايجابية وعدم تكون ذلك وبقاؤهـــا باللون الاصفر فإنه يدل على النتيجة السلبية.	لأن الاندول يكون اللون الاحمر فـــي وجود الالديهايد الموجود في محلـول Kovac.
	ج-Ornithine :	
	يدل بقاء الوسط بـــاللون البنفســجي علـــى النتيجة الايجابية اما اذا تغير اللون البنفسجي الى الاصفر فيدل ذلك على النتيجة السلبية .	لأن البكتيريا تكون قد استفادت مـــن Ornithine وانتجت مـــواد امينيـــة قاعدية فأبقت على اللون البنفســجي، اما تحول اللون الى الاصفر فيـــدل على تخمير الجلوكوز فقط وانتـــاج الحامض.

الكفاية العملية -٤٠-

اجراء فحص Analytical Profile Index (API 20)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات فحص API وقراءة النتائج وتشخيص نوع البكتيريا التابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae

المبدأ:

يعتمد مبدأ هذا النظام على التفاعلات الكيميائية الحيوية حيث توجد المواد الاساسية للفحوصات كمواد جافة في قموع وانابيب صغيرة بلاستيكية تشكل بمجموعها شريطا عريضا حيث يضاف معلق البكتيريا المراد فحصها الى هذه المواد داخل القموع وتحضن لمدة ٤-٦ ساعات في بعض الاحيان ولكن غالبا تحتاج ٢٤ ساعة ثم تقرأ النتائج معتمدة قراءتها على التغيرات اللونية لمحتويات القموع .

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- قلم وسم
- صينية وأشرطة الفحص
- ماء مقطر معقم أو محلول ملحي معقم
- محاليل الكشف المختلفة
- فهرس أسماء وأرقام البكتيريا
- ماء حنفية
- سلك الحقن
- قطارة معقمة
- زيت معدني معقم

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	سجل اسم او رقم المريض على المكان المخصص لذلك ثم اضف ٥ ملل ماء حنفية الى صينية الحضانة، ثم افتح غطاء الشريط وخذ واحدا لكل صينية حضانة.	للوسم ومنعا لحدوث لبس ، لتزويد الجو بالرطوبة، لتجهيز الشريط للعمل.
٢.	التقط مستعمرة منفردة من طبق النمو بوساطة سلك الحقن وامزجها بماء مقطر معقم او محلول ملحي معقم مزجا جيدا .	تحضير معلق بكتيري.
٣.	اضف معلق النمو الى جميع القموع بوساطة قطارة معقمة وأمل صينية الحضانة واملأ مقطع الانابيب الصغيرة. يجب تعبئة	الحقن ، واضافة الزيت لمنع وصول الاكسجين.

	الانبـوب والقمـع التـابعين لـــــ CIT و VP و GEL بـالمعلق ثـم امـلأ قمـــوع ADH و LDC و ODC و URE بزيت معدنـــي معقـم .	
.٤	غـط الشـريط بالغطــــاء البلاســـتيكي وضـع فــي الحاضنــة تحــت درجــــة ٣٥-٣٧م لليـوم التــالي.	لمنـــع الجفـــاف، وللـــــــتزويد بالظروف الفيزيائيـــة المناسـبة.
.٥	خذ النتائج بعد ١٨-٢٤ ساعة وسجلها علـى النموذج الخاص، ستلاحظ نتائج التخمير من القاع الى السطح (لاهوائية) الاكســـدة مـــن السطح الى القاع (هوائية).	تمهيدا لاستخدام الفهرس الذي سيعطي اسم نوع البكتيريا موضوع الفحص.
.٦	لا تضف محاليل الكشف الا بعـــد تفحـص الجلوكوز لوجود غاز ام لا .	لمنـع اخفـــــاء وجـــود الغــــاز بالمحـــاليل الكاشــفة .
.٧	اضف محاليل الكشف الى TDA و VP اذا كانت نتيجة فحص الجلوكوز ايجابية حيـث ستظهر نتيجة TDA فورا بينما نتيجـــة VP بعد ١٠ دقائق.	لأن فحص VP يعتمد علـــى تخمـير الجلوكوز ويستخدم تخمير الجلوكـــوز كمعيار ايجابي لتغير لـــون الكاشــف لفحص TDA.
.٨	اضـــف محلـــول Kovac لانبـــــوب الانـــدول ومحلـــول كشـــف النيـــترات No3 في نهايـــة الامـــر.	لأن الانـــدول و No3 ينتجـــــــان غـــازا يتداخـــل مـــع فحوصــــــات اخرى فـــي الشـــريط.
.٩	اجـــر فحـــص الحركـــة باســـتخدام تقنيـــة القطرة المعلقـــة.	لمعرفـــة ان كـــانت البكتيريــــا متحركـــة ام لا .
.١٠	سجل نتائج الواحد والعشرين فحصا علـــى النموذج لتتحول الى ٧ ارقام بوضعها فـــي مجموعات ثلاثية كـــل ٣ فحوصــات فـــي مجموعة بحيث يأخذ كل فحـــص ايجـــابي النتيجة قيمة رقمية هي نفس الرقم الموجـود اعلى رمز الفحص.	تحويل النتيجـــة الـــى رقـــم مكـــون من ٧ خانـــات .
.١١	ابحث عن الرقم الناتج عندك والمكون من ٧ خانات في الفهرس.	للحصـــول علـــى اسـم البكتيريـــــا موضوع الدراســـة.

الكفاية العملية -٤١-

إجراء تجربة إليك Elek plate Test

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء تجربة إليك لتشخيص عصيات الدفتيريا (الخناق).

المبدأ:

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات فحص API وقراءة النتائج وتشخيص نوع البكتيريا التابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae
عند تفاعل سموم الدفتيريا Diphtheria toxin مع أجسامها المضادة فإن التفاعل يظهر على شكل خط ترسيب. حيث ينتشر السم من البكتيريا باتجاه الأعلى والأسفل وفي نفس الوقت تنتشر الأجسام المضادة يمينا وشمالا ويحدث اللقاء بزاوية ٤٥ مع الخط العرضي.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- شريط ورق ترشيح مشبع بأجسام مضادة لسموم الدفتيريا.
- سلك الحقن.
- وسط زراعي في طبق بتري يحوي النمو المشتبه بأنه عصيات الدفتيريا.
- نمو ضابط إيجابي وسلبي Control
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	حضر الوسط الزراعي الخاص بالفحص في طبق بتري.	الوسط المناسب لأحداث التفاعل.
.٢	أغمر شريط ورق الترشيح بالمصل المحتوي على أجسام مضادة لسموم الدفتيريا وضعه على سطح الوسط ليكون موازي لنظرك (طوليا).	لتحضير شريط الفحص كأحد المتفاعلين.
.٣	انشر النمو البكتيري بوساطة سلك الحقن على سطح الوسط الزراعي بطريقة التخطيط تؤدي إلى تقاطع خطوط الحقن مع شريط ورقة الترشيح (عرضيا).	ليمثل الأنتجين المتفاعل الاخر ولكي يحدث لقاء بين المتفاعلين.
.٤	كرر الخطوة الأخيرة مستخدما نموا ضابطا إيجابيا وآخر سلبيا.	لمقارنة نتيجة الفحص والتحقق من صلاحية المواد المستخدمة.
.٥	أحضن الأطباق تحت ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة وقد تحتاج إلى ٧٢ ساعة حضانة.	الوقت ودرجة الحرارة اللازمين لإتمام التفاعل.
.٦	أخرج الأطباق من الحاضنة ولاحظ تحت الضوء وجود خط ترسيب بزاوية ٤٥ درجة مع خط التخطيط	ليدل على النتيجة الإيجابية.

الكفايـــة العمليـــة -٤٢-

عزل عصيات Clostridium من التربة

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بعزل عصيات Clostridium من التربة.

الاجـــهزة والمـــواد والادوات اللازمـــة :

- حبة بطاطا
- كأس زجاجي
- ماء
- حاضنة
- شرائح زجاجية ومحلول ملحي طبيعي
- سلك حقن Wire Loop
- محاليل واصباغ طريقة جرام

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اقسم حبة البطاطا عرضيا من الوسط الى قسمين ثم اعمل حفرة في السطح المقسوم.	لعمل مكان مناسب لاحتواء التربة.
.٢	املأ الحفرة بالتراب	مصدر العينة.
.٣	اقلب نصف حبة البطاطا في كأس زجاجي بحيث يلامس سطح حبة البطاطا المكونة فيها الحفرة سطح قاع الكأس.	لمنع وصول الهواء اليها.
.٤	اغمر نصف حبة البطاطا بالماء.	للتزويد بالظروف اللاهوائية
.٥	ضع الكأس في الحاضنة لليوم التالي تحت درجة ٣٧م.	لتنمية البكتيريا الموجودة في عينة التربة
.٦	خذ من الماء الموجود في الكأس وحضر لطخة على شريحة زجاجية واصبغها بطريقة جرام.	تحضير لطخة وصبغها.
.٧	ابحث عن عصيات موجبة لصبغة جرام تشبه في شكلها مضرب التنس.	وجود عصيات على شكل مضرب التنس يدل على وجود عصيات Clostridium.

الكفايـــة العمليـــة -٤٣-

تعداد البكتيريا في المنابت السائلة باستعمال الطيف الضوئي

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـــادرا علـــى تعـــداد الخلايـــا البكتيريـــة فـــي المنـــابت الســـائلة باســـتعمال الطيف الضوئـــي.

المبــدأ:

يعتمد على قيـــاس امتصاصيـــة الضـــوء مـــن قبـــل ســـيتوبلازم الخليـــة فكلمـــا كـــان عـــدد الخلايـــا البكتيريـــة أكـــثر زادت الامتصاصيـــة والعكـــس صحيـــح . ولذلـــك فـــإن الخليـــة الأكبر تمتص الضوء أكثر من الخليـــة الأصغـــر وهـــذه مـــن ســـلبيات هـــذه الطريقـــة .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- العينـــة
- وسط ســـائل
- ماصة معقمـــة
- ســـلك حقـــن Wire-loop
- جهاز تحليـــل الطيـــف الضوئـــي.
- حاضنـــة.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	خـــذ ٠,١ ملـــل مـــن نمـــو بكتـــيري فـــي وســـط ســـائل وانشـــره علـــى ســـطح وســـط صلـــب واحضـــن تحـــت درجـــة ٣٧م لمـــدة ٢٤ ساعة وعـــد المســـتعمرات الناميـــة .	للحصول على عـــدد الخلايـــا فـــي المعلق المعيـــاري.
.٢	اضبـــط جـــهاز تحليـــل الطيـــف الضوئـــي علـــى الوســـط الســـائل الخـــالي مـــن النمـــو بعد تحديد طـــول الموجـــة المناســـب.	لتصفـــير الجـــهاز أي معيـــار للعـــدد صفـــر (Blank) .
.٣	خـــذ مقـــدار الامتصـــاص Absorption لهذا النمو فـــي الوســـط الســـائل الـــوارد فـــي الخطوة (١) كمعلـــق معيـــاري.	لأن الامتصـــاص يمثـــل عـــدد الخلايـــا البكتيريـــة فـــي العينـــة (كتلـــة الســـيتوبلازم).
.٤	خـــذ مقـــدار الامتصـــاص للعينـــة موضـــوع الدراســـة.	لأن الامتصـــاص يمثـــل عـــدد الخلايـــا البكتيريـــة فـــي العينـــة (كتلـــة الســـيتوبلازم).

٥.	عد المستعمرات النامية على الطبق بعد اتمام فترة الحضانة واضرب في ١٠ ليمثل عدد البكتيريا / ١ ملل من الوسط السائل.	يمثل عدد الخلايا في المعلق المعياري.
٦.	طبق المعادلة: عدد الخلايا في العينة = الكثافة الضوئية للعينة ×عدد الخلايا في المعلق المعياري الكثافة الضوئية للمعلق المعياري	للحصول على تعداد البكتيريا في العينة.

الفصل الأول

أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الوحدة الثالثة : أساسيات علم الأحياء الدقيقة التشخيصي

Diagnostic Microbiology



الكفايـــة العمليـــة - ٤٤-

جمع العينات المرضية للزراعة

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى جمـــع العينـــات المرضيـــة المختلفـــة والمطلوبـــة منه لغايات الزراعة بشـــكل صحيـــح لاعطـــاء نتـــائج صادقـــة.

المبـــدأ :

يعتمـــد علـــى القواعـــد العامـــة لجمـــع العينـــات لغايـــات الزراعـــة والـــواردة فـــي الخطوات المذكـــورة أدنـــاه .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- اوعية معقمـــة لجمـــع عينـــات البـــول والبراز والبلغـــم .
- اطباق بـــتري معقمـــة فارغـــة .
- حقن بلاستيكية معقمة Syringes
- خافضـــات لســـان.
- رابطـــة مطاطيـــة Tourniquet
- قطن وكحـــول للتطـــهير.
- ماسحات قطنيـــة معقمـــة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	لا تجمع العينة من المريـــض المتعـــاطي للمضادات الحيوية الا بعد مضي ٣ ايـــام من اخر جرعة تناولها او اضـــف مـــادة مثبطة للمضاد الحيـــوي المتعـــاطى الـــى الوسط الزراعي المستخدم.	لتجنـــب ظـــهور نتـــائج ســـلبية خاطئـــة.
٢.	اجمع العينة وبكمية كافيـــة مـــن المكـــان المتوقع وجود المسبب فيه وبأسلوب يمنـــع التلوث ما امكن .	لاجراء جميع الفحوصات المطلوبـــة ولاظهار نتائج صادقة.
٣.	استعمل ادوات معقمة وفي اجواء معقمـــة اثناء جمعك للعينة ما امكن .	لمنـــع تلـــوث العينـــة وظـــهور نتائج ايجابيـــة خاطئـــة.
٤.	استعمل وسط نقـــل خـــاص للعينـــات او صندوق ثلج اذا كان هناك وقت او مســـافة بين جمع العينة والشروع في زراعتها.	للمحافظة على الجراثيم الموجودة فـــي العينة دون نقص او زيادة.
٥.	خـــذ الحيطـــة والحـــذر لمنـــع تلـــوث العينة او اصابتك بـــأي تلـــوث.	لتجنب ظهور نتائج ايجابيـــة خاطئـــة وحمايتك من الإصابة بالمرض .
٦.	احفظ العينة فـــي الثلاجـــة لحيـــن البـــدء في خطـــوات الزراعـــة اذا لـــم تباشـــر بالزراعة مباشـــرة.	لمنـــع تكـــاثر الجراثيـــم الموجـــودة فـــي العينـــة وزيـــادة عددهـــا عـــن العدد الموجـــود.

الكفايـــة العمليـــة -٤٥-

جمع مسحات من الحلق والعين والاذن والجرح والحرق

والجهاز التناسلي الذكري والانثوي والبلغم والبول

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى جمـــع مســحات مـــن المواقـــع المذكـــورة اعـــلاه صالحة لغايـــات الزراعـــة وعـــزل مســببات الالتـــهاب .

المبـــدأ :

جمع العينـــة التـــي تمثـــل الاصابـــة ضمـــن الشـــروط الواجـــب اتباعـــها فـــي جمـــع العينات المرضية وتجنـــب ظـــهور أي نتـــائج ايجابيـــة او ســـلبية خاطئـــة .

*** مسحات الحلق SWAB THROAT :**

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- ماسحة قطنية معقمة Sterile Cotton Swab
- خافض لسان .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اطلـــب مـــن المريـــض فتـــح فمـــــه بشكل كـــامل وقـــول آه.	لتسهيل مهمة مشاهدة والوصول الـــى الموقع المطلوب .
٢.	اضغـــط علـــى اللســـان الـــى اســـفل بوساطة خـــافض اللســـان .	لتسهيل مشاهدة والوصول الى موقـــع الاصابة.
٣.	اخرج الماسحة القنية من غلافها وادخلها عبر الفم حتى تصل الى موقع الالتـــهاب دون ملامستها لاي جزء داخل تجويـــف الفم سواء اثناء الدخول او الخروج.	لمنع التلـــوث .
٤.	امسح موقـــع الاصابـــة عـــدة مـــرات واخرجها وادخلها الى داخل غلافها.	لجمـــع العينـــــة مـــن الموقـــع المصـــاب.
٥.	احفظها في الثلاجة لحين الزراعة.	لمنع حدوث أي تغير على العينة.

* -٤٦- مسحات العين SWAB EYE

الاجـــهزة والمـــواد والادوات اللازمـــــة :

- ماسحة قطنية معقمة Sterile Cotton Swab
- عود خشبي

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اقلب جفن العين بوساطة العود الخشبي .	لتسـهيل الوصـول الــــى موقع الالتــــهاب.
٢.	امسـح بوسـاطة الماسـحة القطنيـة ملتحمــــة العين المصابــــة.	لجمع العينـــة.
٣.	ضـــع الماســحة القطنيــة الـــى داخــل غلافـــها واحفظها في الثلاجـــة اذا لــم تــزرع مباشــرة.	لمنع التلــوث او التغيــير.

* -٤٧- مسحات الأذن SWAB EAR

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- محلول مطهر مثل الكحول .
- قطن
- ماسحة قطنية معقمة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امسح الاذن الخارجية بوساطة مطهر مناسب مثل الكحول.	للتخلص من الساكن الطبيعي.
٢.	ادخل الماسحة القطنية في القناة السمعية الخارجية ولفها عدة مرات .	لجمع اكبر كمية ممكنة من العينة .
٣.	اخرجها واحفظها في غلافها واحفظها في الثلاجة اذا لم تزرع مباشرة.	لمنع التلوث والتغيير .

* -٤٨- مسحات الجروح والحروق SWAB ANDBURN WOUND:

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- محلول مطهر مثل اليود.
- ماسحة قطنية معقمة .
- ابرة او واخزة (Lancet) معقمة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امسح موقع الاصابة الخارجي بالمطهر.	لازالة الساكن الطبيعي على الجلد.
٢.	بوساطة الواخزة او الابرة اثقب الجرح او الحرق الملتهب.	لسهولة الحصول على العينة المصابة.
٣.	بوساطة الماسحة القطنية خذ الافرازات او الصديد الخارج من الموقع.	لجمع العينة.
٤.	احفظ الماسحة في داخل غلافها واحفظها في الثلاجة اذا لم تزرع مباشرة.	لمنع التلوث والتغيير .

*** -٤٩- مسحات الجهاز التناسلي الذكري (الاحليل)SWAB URETHRAL**

•الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

• ماسحة قطنية معقمة • محلول مطهر مثل الكحول.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امسح الفتحة البولية التناسلية بوساطة المطهر.	للتخلص من الساكن الطبيعي.
.٢	ادخل الماسحة القطنية عبر الفتحة البولية التناسلية الى داخل الاحليل لمسافة ١-٢سم.	للوصول الى موقع الاصابة.
.٣	لف الماسحة بلطف بشكل دائري.	للحصول على العينة بشكل مناسب.
.٤	اخرج الماسحة وضعها داخل غلافها واحفظها في الثلاجة اذا لم تزرع مباشرة.	لمنع التلوث او التغيير.

* -٥٠- مسحات من الجهاز التناسلي الانثوي(عنق الرحم) BAWS CERVICAL

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- ماسحة قطنية معقمة
- منظار مهبلي ثنائي الفتحات Bivalve Speculum

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع المنظار المهبلي المعقم داخل المهبل.	لتجنب لمس الماسحة لجدران المهبل.
٢.	نظف المهبل من الافرازات المهبلية بوساطة ماسحات قطنية.	للتخلص من الافرازات المهبلية.
٣.	ادخل ماسحة قطنية عبر المنظار المهبلي حتى تصل الى عنق الرحم.	لمنع التلوث .
٤.	مرر الماسحة على جدار عنق الرحم واجعله يمكث ٢-٣ دقائق .	لجمع العينة من موقع الاصابة.
٥.	اخرج الماسحة وضعها في غلافها واحفظها في الثلاجة اذا لم تزرع مباشرة.	لتجنب التلوث او التغيير.

* -٥١- البلغم : SPUTUM

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- علبة بلاستيكية معقمة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اطلب من المريض ان يسعل سعلة عميقـة من اعماق الرئة.	لتمثل عينة من موقع التهاب الرئة .
٢.	اطلب من المريض ان يفرغها داخل العلبة المعقمة التي لا تفتح الا حين تفريغ عينــة البلغم فيها.	للحفظ من التلوث .
٣.	اطلب من المريض / او اغلق علبة العينـة واحفظها في الثلاجة لحين الزراعة.	للحفظ من التلوث او التغيير .
٤.	يجب تجنب جمع اللعاب.	لانه لا يمثل عينة التهاب الرئة.

* -٥٢- البول URINE :

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- حاوية مغلقة معقمة .
- ماء

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اطلب من المريض تنظيف منطقة خروج البول من الخارج بالماء .	للتخلص من الساكن الطبيعي للجلد
.٢	اطلب من المريض التخلص من اول كمية بول تخوج من الاحليل .	لانها تنظف الاحليل من البكتيريا الداخلة من الخارج.
.٣	اطلب من المريض فتح حاوية العينة ووضع البول المتدفق فيها واغلاقها بعد الانتهاء مباشرة.	جمع العينة ومنعها من التلوث .
.٤	تحفظ العينة في الثلاجة لحين الزراعة .	لمنع نمو وتكاثر البكتيريا ولتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة.

الكفاية العملية -٥٣-

جمع عينة دم لغايات الزراعة

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على جمع عينة دم من المريض تصلح لغايات الزراعة.

المبدأ:

يعتمد على جمع كمية مناسبة من العينة تحت ظروف وبأدوات معقمة.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- رابطة مطاطية Tourniquet
- قنينة وسط زراعة الدم.
- حقنة مع إبرة معقمة.
- مواد مطهرة (محلول يود وكحول) وقطن وأشرطة طبية لاصقة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اربط الرابطة المطاطية حول الذراع فوق المرفق.	حتى يبرز الوريد.
٢.	تفحص طبيعة الأوردة المرفقية واطلب من المريض اغلاق وفتح كفة اليد.	للتأكد من إدراك الوريد وتنشيط الدورة الدموية.
٣.	طهر منطقة الوريد الذي ستسحب منه الدم بمحلول اليود والكحول عدة مرات مغيرا القطنة في كل مرة.	لمنع تلوث الإبرة اثناء دخولها إلى الوريد وحصول مضاعفات للمريض.
٤.	تأكد من خلو الحقنة من الهواء بضغط المكبس إلى آخر مداه وتأكد من ثبات الإبرة في رأس الحقنة بشكل جيد.	لتجنب دخول الهواء إلى الدورة الدموية وتجنب انفصال الإبرة عن الحقنة عند سحبها من الوريد بعد الإنتهاء من جمع العينة.
٥.	انزع غطاء الإبرة وادخلها في الوريد بشكل مواز لإتجاه الوريد وبزاوية ٣٠-٤٥ درجة مع سطح الجلد.	لإدخال الإبرة بشكل مواز لجريان الدم وعدم ادخالها عموديا خوفا من ثقب الوريد من الجهة المقابلة ثقبا أخرا.
٦.	اسحب مكبس الحقنة لكي يبدأ الدم بالتدفق في داخل الحقنة.	لجمع العينة في الحقنة لكي تكون الكمية كافية لعزل المسبب إن وجد في العينة ومنع خروج الدم خارج الوريد ومنع التلوث.

.٧	اجمع ١٠-١٥ ملل من الدم ثم فك الرباط وغط مكان دخول الإبرة بقطنة مبللة بالمطهر واخرج الإبرة من داخل الوريد واطلب من المرض ثني ذراعه للأعلى.	كمية كافية لغايات الزراعة ولعدم تعريض الثقب للجو الخارجي وحتى يتوقف الدم عن الخروج من الوريد.
.٨	فرغ محتوى الحقنة في داخل قنينة وسط زراعة الدم ثم اقلبها مرتين بلطف.	لمزج الوسط الزراعي مع الدم (البكتيريا) إن وجدت.
.٩	غط منطقة الثقب بوساطة شريط طبي لاصق وتخلص من بقايا الحقنة والإبرة والقطن.	لمنع أي احتمال لتلوث الثقب.

الكفاية العملية -٥٤-

تشخيص مسببات الاصابة في الجهاز البولي

الهدف :

١.أن يكون الطالب قادرا على زراعة عينات البول .
٢.أن يكون الطالب قادرا على عزل وتشخيص مسببات الالتهاب .
٣.أن يكون الطالب قادرا على كتابة التقرير للطبيب .
٤.أن يكون الطالب قادرا على اتخاذ قرار بمرضية الحالة .

المبدأ :

يعتمد مبدأ تشخيص مسببات الاصابة في أي جهاز في جسم الانسان على المعرفة السابقة بصفات البكتيريا المتوقع تسببها في الالتهاب سواء من الناحية الشكلية أو الزراعية أو الكيميائية الحيوية أو المصلية .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- عينة بول
- لهب بنسون
- سلك الحقن loop– Wire
- ملقط .
- حاضنة .
- أوساط زراعية Sens. Agar. B,A. Mac C , E M B
- المواد اللازمة لاجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية والشكلية والمصلية .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امزج عينة البول ثم ادخل سلك الحقن المعقم المعاير (بقطر ٤ ملم) داخل العينة ليحمل ٠,١ مل من العينة .	لتحقيق التجانس ثم لتثبيت حجم العينة المزروع.
.٢	انشر العينة المحمولة على سطح كل وسط من الأوساط الزراعية المستخدمة وبطريقة التخطيط Streaking method دون حرق السلك بين مناطق التخطيط المختلفة أو بأية طريقة تخطيط أخرى .	للزراعة والتخفيف ولمحاولة تنمية جميع الخلايا العالقة على سلك الحقن.
.٣	ضع الأطباق في الحاضنة تحت درجة ٣٧ م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة .	للتزويد بالظروف والزمن اللازمين للنمو.
.٤	عد المستعمرات النامية	لانك اخذت ١٠٠/١ مل ،

	واضـــرب العـــدد × ١٠٠ لتحصـــل على عدد الخلايـــا فـــي كـــل ١ ملـــل مـــن العينـــة، إذا كـــان العـــــدد دون الحـــد الأدنـــى للحالـــــة المرضيـــــة تخلـــص مـــن الأطبـــــاق معطيـــا نتيجة ســـلبية. امـــا إذا كـــان العـــدد في دائـــــرة الحالـــة المرضيـــة فتـــابع الخطوات التاليـــــة:	ولتقييم الحالـــــة.
٥.	أرصـــد الصفـــات الزراعيـــة وقـــــم بـــاجراء مـــا يلـــزم مـــن تجـــــارب الصفات الشـــكلية اذا لـــزم الامـــر.	للتعـــرف علـــى الصفـــات الزراعيـــــة والشـــكلية .
٦.	قم بـــاجراء مـــا يلـــزم مـــن تجـــارب الصفات الكيميائيـــــة الحيويـــة اذا لـــم تتمكـــن مـــن تشـــخيص الجراثيـــــم النامية الشـــكلية والزاعيـــة.	للتعـــرف علـــى الصفـــات الكيميائيـــــة الحيويـــة .
٧.	قم بـــاجراء مـــا يلـــزم مـــن تجـــارب الصفـــات المصليـــة اذا لـــم تتمكـــــن مـــن تشـــخيص الجراثيـــم الناميـــة او اذا كـــــان المطلـــــوب التشـــــخيص علـى مســـتوى النـــوع Type .	للمســـاعدة فـــي التشـــخيص والتـــأكيد على نـــوع البكتيريـــا .
٨.	قـــم بـــــاجراء تجربـــــة حساســـــية البكتيريا للمضـــــادات الحيويـــة.	لمعرفـــة نـــوع المضـــــاد الحيـــــوي القاتل للبكتيريـــا المســـببة.
٩.	حضـــــر لطخـــــة مـــــن راســـــب عينـــــةالبول واصبغـــــها بطريقـــــة Z.N اذا اشـــــتبه بالاصابـــــة بـــــــ T.B.	للتأكد من وجـــود عصيـــات الســـل.
١٠.	اكتب التقريـــــر موضحـــا فيـــه نـــوع الجرثومـــــة المســـببة للاصابـــــة ونتيجـــة تجربـــة حساســـــيةالبكتيريا للمضـــــادات الحيويـــــة او ســـــلبية النتيجـــة.	لارشـــاد الطبيـــــب فـــــي وصـــــف العـــلاج.

الكفايـــة العمليـــة -٥٥-

تشخيص المسببات المرضية في العينات التالية:

١.مســـحات الجـــهاز التناســـلي (المـــهبل والاحليـــل).
٢.افـــرازات البروســـتات
٣.مسحات الحلـــق والفــم
٤.مســـــحات الاذن
٥.مسحات العيـــن
٦.مســـحات الحـــروق والجـــروح

الـــهدف :

١.ان يكون الطالب قادرا على القيام بزراعة العينات الواردة اليه بشكل صحيح.
٢.ان يكون الطالب قـــادرا علـــى القيـــام بتشـــخيص مســـببات الالتـــهاب.
ان يكون الطالب قادرا علـــى القيـــام بكتابـــة التقريـــر للطبيـــب.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- اوساط زراعية وتشمل : CHOCOLATE AGAR, BLOOD AGAR, M.S.A, MACC., EMB, SENSITIVITY AGAR, THIOGLYCHOLATE BROTH, SDA.
- ٥% KOH
- اقـــراص لمضـــادات حيويـــة.
- ملقـــط
- لهب بنســـون
- ســـلك الحقـــن WIRE-LOOP
- المـــواد اللآزمـــــة لاجـــراء الفحوصـــات الشـــكلية والكيميائيـــة الحيويـــة والمصليـــة.
- ماسحات قطنيـــة معقمـــة .
- حاضنـــة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	انشـــر العينـــة علـــى ســـطح الاوســـاط الزراعيـــة المعنيـــة المســـتخدمة لعمـــل خطـــوط بوســـاطة الماســـحة القطنيـــة أو المـــس الماســـحة بســـطح الوســـط وأكمـــل التخطيط بوســـاطة ســـلك الحقـــن .	إذا كـــانت الماســـحة القطنيـــة تحمل جزءا قليـــلا جـــدا مـــن العينـــة. إذا كـــانت تحمـــل كميـــة كبيرة من العينـــة .
٢.	حضـــر لطخـــة مباشـــرة Direct Smear بدحرجـــة Rolling الماســـحة	لتشـــخيص الـــ Neisseria وبعـــض الانـــواع الاخـــرى

	على الشريحة واصبغها بصبغة جرام اذا كانت العينة من الجهاز التناسلي الذكري او الانثوي.	وبسرعة.
٣.	حضر معلق العينة باستخدام ٥% KOH اذا اشتبه بوجود فطريات.	لمشاهدة الغصينات الفطرية .
٤.	ضع الاطباق المحضونة بالعينات في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ساعة واطباق اخرى في الجرة اللاهوائية Anaerobic Jar .	لتنمية البكتيريا الهوائية واللاهوائية.
٥.	تخلص من الاطباق معطيا نتيجة سلبية اذا لم يظهر نمو بعد ٤٨ ساعة من الحضانة .	لعدم ظهور نتيجة تحتاج للمتابعة .
٦.	ارصد الصفات الزراعية للجراثيم النامية على كل وسط وقم باجراء ما يلزم من تجارب الصفات الشكلية اذا لزم الامر.	للتعرف على الصفات الزراعية والشكلية .
٧.	قم باجراء ما يلزم من تجارب الصفات الكيميائية الحيوية اذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية من خلال الصفات الشكلية والزراعية.	للتعرف على الصفات الكيميائية والحيوية .
٨.	قم باجراء ما يلزم من تجارب الصفات المصلية اذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية، او اذا كان المطلوب التشخيص على مستوى النوع Type.	للتعرف على الصفات المصلية والتأكيد على نوع البكتيريا .
٩.	قم باجراء تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.	لمعرفة نوع المضاد الحيوي القاتل للبكتيريا المسببة.
١٠.	اكتب التقرير موضحا فيه نوع الجرثومة المسببة للاصابة، ونتيجة تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية، او سلبية النتيجة.	لارشاد الطبيب في وصف العلاج.

الكفايـــة العمليـــة -٥٦-

تشخيص مسببات الاصابة للقناة الهضمية (المعدة والامعاء)

الـــهدف :

١.ان يكون الطالب قـــادرا علـــى زراعـــة عينـــات الـــبراز.
٢.ان يكون الطالب قـــادرا علـــى تشـــخيص مســـببات التـــهاب الامعـــاء.
٣.ان يكون الطالب قـــادرا علـــى كتابـــة التقريـــر للطبيـــب.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- عينة براز او مســــحات شـــرجية او عينـــة نســـيجية معديـــة.
- اوساط زراعية, X.L.D., D.C.A. , S.S.A, Selenite broth, T.C.B.S., M.S.A., EMB., MacC., B.S.A, Campy-Blood Agar, Skirrows Agar, S.D.A
- اقراص مضادات حيوية وملقط.
- سلك الحقن Wire-loop
- لهب بنسون
- المواد اللآزمة لاجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية والفحوصات المصلية والشكلية .
- ما سحات قطنية Cotton Swab معقمة .
- حاضنة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ كمية من عينة البراز بوساطة ماســـحة قطنية معقمة او المسحة الشرجية واحقنـــها في الاوساط السائلة Selenite broth.	عزل السالمونيلا والشيجيلا .
٢.	خذ كمية من عينة البراز الســـائلة بوســـاطة ماسحة قطنية معقمة اوالمســـحة الشـــرجية واحقنها في الاوساط الصلبة المعنية بطريقـــة التخطيط .	لتنمية المســـبب حســـب الوســـط المستخدم.
٣.	خذ كمية من عينة الـــبراز غـــير الســـائلة بوساطة ماسحة قطنية معقمة وضعها فـــي انبوب اختبار يحوي محلول ملحي طبيعـــي N.S معقم لعمل معلق للعينة ثم امزج جيـــدا وانقل من المعلق الى سطح الاوساط الصلبـــة المعنية وبطريقة التخطيط.	لتجنب وجود جزيئات براز علـــى سطح الوسط الصلب الذي يـــؤدي الى ظهور المســـتعمرات بشـــكل واضح.
٤.	خذ العينة النسيجية المعدية واحقنـــها علـــى Skirrows Agar.	لعزل H. pylori

٥.	ضع الاوساط المحقونة المختلفة والمعنية بالفحص في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لليوم التالي او الذي يليه. وتحت ظروف تحوي قليلا من الاكسجين ونسبة عالية من الرطوبة للوسط Skirrows Agar ولمدة ٧ ايام.	لتزويد البكتيريا بالاجواء المناسبة للنمو.
٦.	انقل من الاوساط السائلة في الخطوة الاولى الى S.S. Agar او D.C.A واحقن لليوم التالي.	لعزل الـ Salmonella و الـ Shigella.
٧.	تخلص من الاطباق التي لم تظهر نموا بعد ٤٨ ساعة من الحضانة.	لاعتبار النتيجة سلبية.
٨.	ارصد الصفات الزراعية للبكتيريا النامية على كل نوع من الاوساط المحقونة وقم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الشكلية اذا لزم الامر.	للتعرف على الصفات الزراعية والشكلية .
٩.	قم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الكيميائية الحيوية اذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية من خلال الصفات الشكلية والزراعية.	للتعرف على الصفات الكيميائية الحيوية .
١٠.	قم باجراء ما يلزم من تجارب الصفات المصلية اذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية او اذا كان المطلوب التشخيص على مستوى النوع Type.	للتعرف على الصفات المصلية والتأكيد على نوع البكتيريا .
١١.	قم باجراء تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية تبعا لنوع الجرثومة المعزولة.	لمعرفة نوع المضاد الحيوي القاتل للبكتيريا المسببة.
١٢.	حضر لطخة من البراز واصبغها بطريقة Z.N اذا اشتبه بالاصابة بـ T.B .	للتأكد من وجود عصيات السل .
١٣.	اكتب التقرير موضحا فيه نوع الجرثومة المسببة للاصابة، ونتيجة تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية او سلبية النتيجة.	لارشاد الطبيب في وصف العلاج.

الكفايـــة العمليـــة -٥٧-

تشخيص المسببات المرضية لالتهاب السحايا والدماغ في عينة سائل النخاع الشوكي CSF

الــهدف :

ان يكــون الطــالب قــادرا علــى القيــام بــاجراءات تشــخيص المســبب المرضـــي لالتـــهاب الســحايا والدمــاغ . أ-الفحـص المباشـر ب-الزراعـــة.

الأجـــهزة والادوات والمــواد اللازمــــة :

- انابيب اختبـــار
- جهاز طـــرد مركـــزي
- محلول ملحي طبيعي N.S والحبر الصيني
- حاضنة .
- قطـــارات
- شـــرائح زجاجيـــة واغطيتـــها.
- امصال خاصة للمكورات الرئوية
- مواد فحـــص حساســية البكتيريـــا للمضـــادات الحيويـــة.
- اوساط زراعية Thioglycholate broth و L.j.m و B.a و Ch.a و Sda و Brain heart infusion و Macc.

الرقم	الخطوات	المبررات
	أ-الفحص المباشر:	
١.	ركز العينة مســـتخدما جـــهاز الطـــرد المركزي وافصل الطافي في انبوب معقم لاجراء الفحوصات الكيميائيـــة الحيويـــة والمصلية وابق الراســـب للفحوصـــات الجرثومية.	لفصل الجراثيـــم فـــي الراســـب عـــن باقي اجزاء العينـــــة.
٢.	جـــهز تحضـــير رطـــب باســـــتخدام المحلـــول الملحـــي الطبيعـــي N.S	لمشاهدة E. histolytica
٣.	جـــهز تحضـــير رطـــب باســـــتخدام الحـــبر الـــهندي India Ink .	لمشاهدة C. neoformans
٤.	اجـــراء فحـــص Quallung.	للتحقق من وجود Strep. Pneumonia و H. influenzae .
	ب-الزراعة :	
١.	احقـــن الراســـب فـــي انبـــوب يحـــوي Thioglycholate broth واخـــر يحـــوي	لتنمية المسبب الموجود.

	L.J.M واطباق تحــوي B.A و Ch.A و SDA او BHI Agar و MacC.	
.٢	ضع الاطباق في الحاضنة تحت درجــة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ساعة -٧٢ساعة تحت الظروف الهوائيــة وبوجــود ٥-١٠% Co2 بينما ابق اطبــاق SDA وانــابيب L.J.M في درجة حرارة الغرفة.	لتنميــة البكتيريــــا الهوائيــــة واللاهوائيــة
.٣	تفحص الاطباق بعد كل ٢٤ ساعة واعط نتيجة سلبية بعد ٧٢ ساعة اذا لم يظــهر نمو باستثناء طبق SDA بعــــد اســبوع وانابيب L. J.M بعد ٤ اسابيع.	عدم وجود جراثيــم فــي العينــة.
.٤	ارصد الصفات الزراعية عند ظهور نمو ثم قم باجراء تجارب فحوصات الصفـلت الشكلية ثم الكيميائية الحيوية ثم المصليــة كلما لزم الامر.	لاتمام التشــــخيص
.٥	اجر تجربة حساسية البكتيريا للمضــادات الحيوية.	لمعرفة نوع المضاد الحيــوي القــاتل للبكتيريا المسببة للاصابة .
.٦	اكتب التقرير للطبيب مبينا نوع المســبب وحساسيته ومقاومته للمضادات الحيويــة المستخدمة.	لارشاد الطبيب فــــي العــلاج.

الكفايـــة العمليـــة -٥٨-

تشخيص المسببات المرضية في عينة الدم.

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى القيـــام بـــاجراءات تشـــخيص المســـبب المرضـــي لتعفـــن (تجـرثـــم) الـــدم Septicemia.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- حقن بلاســـتيكية معقمـــة
- قنينـــة زراعـــة الـــدم Blood Culture Bottle
- أنابيب اختبـــــار
- موانع تجلـــط .
- أوساط زراعيـــة مختلفـــة
- حاضنـــة
- سلك الحقـــن .
- رابطـــة مطاطيـــة Tourniquet

مواد فحـــص حساســـية البكتيريـــا للمضـــادات الحيويـــة .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اجمع ١-٥ ملل دم من الاطفال و ١٠-١٢ ملل او ٣٠ ملل من البالغين تحت ظروف معقمة تماما وفرغ في انبوب يحوي ٣,٤ ملل من ٠,٣٥% مانع للتجلط من نوع liquid في N.S امزج جيدا. او فرغ الدم مباشرة في قنينة تحوي وسطا سائلا Triypticase broth Trypticasel او Soy broth مع مانع للتجلط مناسب Blood Culture Bottle ثم امزج جيدا.	لجمـــع العينـــــة بالشـــكل والكميـــة المناســـبين وحقنـــها فـــي الوســـط الزراعـــي الخـــاص .
.٢	احضـــن قنـــاني زراعـــة الـــدم هوائيـــا ولاهوائيـــا تحـــت درجـــة ٣٧م.	لتوفير الظـــروف المناســـبة للنمـــو.
.٣	خذ من قناني زراعـــةالدم (واحـــدة او اكـــثر) بعـــد المـــزج عبـــوة حلقـــة سلك loopful الحقن وانشر على ســـطح الاطباق B.A و Ch.A واحضن هوائيـــا	للتحقق من وجود أي جراثيم نامية.

	ولاهوائيا، ثم حضر في نفس الوقت لطخة واصبغها بطريقة جرام وافحصها مجهريا.	
٤.	كرر العملية كل يوم خلال الاسبوع الاول وكل يومين مرة خلال الاسبوع الثاني حتى يظهر النمو ويشخص او تبقى النتيجة سلبية بعدم ظهور نمو بعد مضي اسبوعين من الحضانة المستمرة.	لمتابعة التحقق من وجود أي جراثيم نامية .
٥.	ارصد الصفات الزراعية واجر تجارب الصفات الشكلية والكيميائية الحيوية والمصلية كلما لزم الامر .	لاتمام التشخيص.
٦.	اجر تجربة فحص حساسية البكتيرية للمضادات الحيوية للبكتيريا المعزولة.	لمعرفة انواع المضادات الحيوية القاتلة للبكتيريا .
٧.	اكتب النتيجة التي حصلت عليها سواء الايجابية ذاكرا فيها اسم نوع الجرثومة المعزولة ونتيجة تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية ام السلبية بعد انتهاء فترة الحضانة.	لارشاد الطبيب للعلاج.
٨.	في حالة توفر نظام الحضانة والكشف الذاتي Bactec System في المختبر فلن تحتاج للزراعة الثانوية على الأوساط الصلبة إلا بعد إعطاء إشارة من الجهاز يدل على حدوث نمو في قنينة زراعة الدم .	يزود النظام كاشف خارجي (صوت إنذار أو/ و إضاءة) يعتمد على انتاج الغاز كأحد مخلفات النمو .

الكفايـــة العمليـــة -٥٩-

تشخيص مسبب التهاب الجهاز التنفسي السفلي

الـــهدف :

١.ان يكون الطالب قادرا علــــى تجــهيز عينـــة البلغـــم للفحـــص.
٢.ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى تشـــخيص المســـبب المرضـــي لالتـــهاب الجهاز التنفســـي الســـفلي مـــن خـــلال زراعـــة عينـــة البلغـــم او الشـــفط المعـــدي او الشفط القصبـــــي او غســـيل الحويصـــلات الشـــعبية.
٣.ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى تشـــخيص المســـبب المرضـــي لالتـــهاب الجهاز التنفسي السفلي مــــن خـــلال الفحـــص المجـــهري للبلغـــم.

الأجــهزة والادوات والمــواد اللازمــــة :

- محلول KOH تركيز ٥% و ١٠%
- انابيب اختبـــار
- جهاز الطـــرد المركـــزي
- حاضنة
- انـــابيب الوســـط L.J.M
- اقـــراص الـــــ Bacitracin
- شـــرائح زجاجيـــة
- غطاء شـــريحة
- اصبـــاغ Z.N
- مجـــهر
- لوازم تجربـــة حساســـية البكتيريـــا للمضـــادات الحيويـــة.
- اطباق اوساط زراعية .SDA, CH.A, MacC., B.A

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امـــزج عينـــة البلغـــم بــــ ٥% محلـــول هيدروكســــــيد البوتاســـــــــيوم KOH المعقـــم.	لاسالة المخـــاط.
.٢	عـــرض العينـــــة للطـــــرد المركـــــزي وتخلص مـــن الطـــافي.	لفصـــل وتركـــيز الجراثيـــم فـــي الراســـب.
.٣	أحقن اطباق الاوساط الزراعية Blood Agar و .MacC و Chocolate Agar بالعينـــــــة المركزة وضع في الحاضنة تحـــت درجـــة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ساعة.	لتنمية معظـــم انـــواع المســـببات.
.٤	احقن انبوب الوسط L. J. Medium وطبـــق SDA واضغط تحت درجة حرارة الغرفة.	لتنمية عصيـــات الســـل
.٥	ضـــع اقـــــراص Bacitracin المحتويـــــة ١٠ وحـــدات فـــوق منطقـــــــةالحقن	لمعرفة حساسية مجموعة A مــــن Beta-hemolytic Strep وقليل مــــن

	الاولية على سطح طبق الـ Chocolate Agar .	المجموعة B .
٦.	ارصد الصفات الزراعية وحاول تشخيص المسبب اذا امكن والا فاستخدم تجارب الصفات الشكلية ثم الكيميائية الحيوية ثم المصلية حيثما لزم الامر.	لتحقيق التشخيص.
٧.	اجري تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.	لمعرفة أنواع المضادات للحيوية القاتلة للبكتيريا .
٨.	حضر شريحة من الراسب بطريقة التحضير الرطب باستخدام المحلول الملحي وتفحصها مجهريا.	للكشف عن الطفيليات.
٩.	حضر شريحة من الراسب بطريقة التحضير الرطب باستخدام 10% KOH وتفحصها مجهريا.	للكشف عن الفطريات.
١٠.	حضر لطخة من الراسب واصبغها بطريقة Z.N وتفحصها مجهريا.	للكشف عن عصيات السل.
١١.	حضر لطخة من الراسب واصبغها بطريقة جرام وتفحصها مجهريا .	للكشف عن بعض انواع البكتيريا.
١٢.	اكتب التقرير باسم الجرثومة المعزولة وحساسيتها للمضادات الحيوية.	لارشاد الطبيب في المعالجة.

الفصل الثاني

علم الطفيليات الطبي

Medical Parasitology

الكفاية العملية – ٦٠–

جمع وحفظ عينات البراز

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على إعطاء المريض التعليمات اللازمة لجمع عينة البراز وحفظ العينة لحين إجراء الفحص.

المبدأ:

يعتمد على حفظ العينة بعد جمعها للمحافظة على محتوياتها من الكائنات الدقيقة أو عمل تحضير وحفظه باستخدام وسط تغطية مناسب .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- حاوية كرتونية مشمعة من الداخل مع غطاء أو حاوية بلاستيكية مع غطاء.
- ثلاجة.
- كندا بلسم.
- شريحة زجاجية.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اطلب من المريض جمع عينة البراز بشكل طبيعي داخل الحاوية وأغلقها.	جمع العينة .
٢.	ضع حاوية العينة في الثلاجة لحين الفحص.	لمنع موت الطفيليات.
٣.	اذا كانت العينة مائعة أو سائلة يجب فحصها خلال ساعة فقط.	لاحتمال وجود أوليات في الطور التكاثري وهذه تموت بعد خروجها من جسم العائل بساعة
٤.	إذا أردت التخلص من حاوية العينة يمكن عمل تحضير رطب وتغطيته بغطاء شريحة ثم إحاطة غطاء الشريحة بمادة الكندا بلسم حتى تحافظ على رطوبة العينة.	أسلوب من أساليب الحفظ خاصة إذا كانت العينة محتوية على حويصلات الأوليات أو بيوض الديدان.
٥.	تجنب تسخين العينة أو تعريضها لمصدر حراري.	لمنع قتل محتوياتها من الكائنات الحية.
٦.	أضف إلى العينة ٣-٤ أضعاف حجمها من ١٠% محلول فورمالين واحفظ في الثلاجة.	لحفظ محتويات العينة لعدة سنوات.

الكفايـــة العمليـــة -٦١-

فحص البراز ظاهريا

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا علـــى القيـــام بـــاجراء فحـــص ظـــاهري لعينـــة الـــبراز .

المبـــدأ :

يعتمد على التركيز على القوام واللون ووجود الدم والمخاط وأجسام غريبة .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- قناع وجـــهي
- ورقة تقريـــر وقلـــم .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع القناع علـــى الوجـــه.	لتجنب الرائحـــة الكريهـــة.
٢.	افتح غطاء علبة العينة وتفحص مركزا على الصفات التالية :	
	أ- القـــوام.	لتحديـــد اذا كـــان ســـــائلا-مائعـــا-صلبـــا.
	ب- اللـــون.	طبيعـــي بنـــي فـــاتح، أو اللـــون القـــاتم ليـــدل علـــى وجـــود الـــدم أو شـــحوب أو اختفـــاء اللـــون الطبيعــــي ليـــدل على انســـداد القنـــوات الصفراويـــة .
	ج- وجـــود دم.	دلالـــة علـــى الـــنزيف الشـــرجي او المعـــدي او المعـــوي.
	د- وجود مخـــاط	دلالـــة علـــى الاصابـــة الطفيليـــة او البكتيريـــة.
	هـ-وجود اجســـام غريبـــة.	مثل قطع الديـــدان او غيرهـــا.
٣.	اكتـــب مـــا تشـــاهده علـــى ورقـــة التقريـــر.	لارساله للطبيـــب.

الكفايـــة العمليـــة -٦٢-

القيام بعمل التحضير الرطب (المباشر) لعينة البراز

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيـــام بعمـــل تحضـــير مباشـــر جيـــد لعينـــة الـــبراز.

المبـــدأ :

يعتمـــد علـــى اســـتخدام محـــاليل تظـــهر الطفيـــل فـــي مختلـــف أطـــــواره بشـــكل واضح مثل محلـــول اليـــود والمحلـــول الملحـــي الطبيعـــي.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- عينة بـــراز
- أعواد خشـــبية.
- شـــرائح
- اغطية شـــــرائح
- محلول ملحـــي طبيعـــي
- محلول يـــود
- ورقة تقريـــر
- مجـــهر.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضـــع قطـــرة مـــن المحلـــول الملحـــي و/او محلـــول اليـــود علـــــى ســـــطح الشـــريحة.	المحلـــول الملحـــي للطـــــــور التكـــاثري واليرقـــــات ومحلـــــول اليـــود للحوصـــلات والبيـــوض.
٢.	خذ جزء بسيط من المنطقة المخاطيـــة او المدممة من عينة البراز بوســـاطة العـــود الخشبي وامزجه مع قطرة المحلول علـــى الشريحة.	لتحضير معلـــق.
٣.	تجنب بقاء اية اجزاء صلبة بـــارزة مـــع المعلق بوساطة رأس عود مكسور.	لتجنب تكون فقاعـــات هـــواء.
٤.	خذ غطاء الشريحة وضع حافته على حافة قطرة المعلق بشكل مائل ثم انزلها باتجـــاه الشريحة تدريجيا حتى تغطي قطرة المعلق بالكامل.	لتغطيـــة قطـــرة المعلـــق وتجنـــب تكون فقاعـــات هـــواء.
٥.	ضـــع الشـــــريحة تحـــت المجـــــهر وشـــاهدها باســـتخدام العدســـات الجافـــة ١٠ ثـــم ٤٠.	لإجـــراء المســـح لاســـــتخدام العدســـة ١٠ ثـــم التـــأكد مـــــن أي اشـــتباه باســـتخدام العدســـة ٤٠.
٦.	اكتب اسماء الاشياء غير الطبيعيـــة التـــي تشاهدها على ورقة التقرير.	لتشخيص الحالة وارسالها للطبيب.

الكفايـــة العمليـــة -٦٣-

تمييز الاشياء الطبيعية الموجودة في عينات البراز

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تمييز الاشياء الطبيعية التي تتواجد في عينات البراز.

المبـــدأ :

يعتمـــد علـــى المعرفـــة الســـابقة بالأشـــكال الطبيعيـــة الموجـــودة فـــي الـــبراز حتـــى لا يحدث لبس بينـــها وبيـــن الأشـــياء غـــير الطبيعيـــة (المرضيـــة) .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- عينة بـــراز
- شرائح زجاجيـــة واغطيـــة شـــرائح.
- المـــواد الخشـــبية.
- محلول ملحي طبيعي ومحلول يود.
- مجـــهر
- ورق تقريـــر

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	جهز شـــريحة لعينـــة بـــراز بطريقـــة التحضـــير المباشـــر (الرطـــب) بالمحلول الملحـــي واليـــود.	لتمثل ما تحويـــه العينـــة مـــن اشـــياء طبيعيـــة.
٢.	تفحـــص التحضـــير تحـــت المجـــهر مستخدما العدســـات الجافـــة.	تســـتخدم العدســـات الجافـــة للتحضـــيرات الرطبـــة.
٣.	قارن ما تراه بلوحات توضـــح صـــور الاشياء الطبيعية الموجودة في عينـــات البراز وتشمل حبيبـــات النشـــا النباتيـــة والألياف اللحمية المهضومة والصـــابون وفقاعات الهواء وقطرات الزيت وشـــعر النباتات والأبواغ الفطرية وحبات الغبـــار والخمائر والخلايا البيضـــاء والخلايـــا الصديدية والخلايا الحمـــراء و Coccidia و Blastocystis.	للاستعانة بها علـــى التميـــيز.
٤.	اكتب اسماء الاجسام التي تراهـــا علـــى ورقة التقريـــر اذا كـــان لـــها اهميـــة تشخيصية.	لتحديـــد الاشـــياء ذات الأهميـــة وارسالها بتقريـــر للطبيـــب.

الكفايــة العمليــة -٦٤-

تشخيص الاصابة بالاوليات والديدان المعوية

الـهدف :

ان يكـون الطـالب قـادرا علـى تميـيز انـواع واطـوار الاوليـات وبيـوض ويرقات الديـدان المعويـة.

المبـدأ :

يعتمـد علـى المعرفـة السـابقة بأشـكال الأوليـات المعويـة بطوريـها الحوصلـة والتكاثري والديـدان بطوريـها البيـوض واليرقـات .

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـة :

- عينة بـراز
- شـرائح زجاجيـة
- غطاء شـرائح
- أعواد خشـبية
- محلول ملحـي طبيعـي
- محلول يـود
- مجـهر

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	جـهز شـريحة لعينـة الـبراز بطريقـة التحضـير المباشـر (الرطـب) بـالمحلول الملحي ومحلـول اليـود.	لتمثل مـا تحويـه العينـة مـن طفيليات وغيرهـا.
٢.	تفحـص التحضـير تحـت المجـهر مسـتخدما العدسـة ١٠ ثـم العدسـة ٤٠ للتأكد مما تشك بـه تحـت العدسـة ١٠.	تسـتخدم العدسـات الجافـة للتحضـيرات الرطبـة.
٣.	قارن مـا تـراه بلوحـات توضـح صـور طـور الحوصلـة والطـور التكـاثري للاوليـات المعويـة وصـور بيـوض ويرقات الديـدان المعويـة.	لتحديد طور ونـوع الطفيـل .
٤.	اكتـب اسـم طـور الطفيـل الاولـي او الـدودة المعويـة التـي شـاهدتها علـى ورقة التقريـر.	لتحديـد الطـور والنـوع وارسـال النتيجـة بتقريـر للطبيـب.

الكفايـــة العمليـــة -٦٥-

فحص البراز بطريقة التركيز

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى تشـــخيص الاصابـــة المعويـــة باســـتخدام تقنيـــة التركيز عـــن طريـــق:

١-الترســـيب.

٢-التعويـــم.

المبـــدأ :

يعتمد على تجميـــع أكـــبر عـــدد ممكـــن مـــن محتويـــات الـــبراز الطفيليـــة فـــي أقـــل حجم ممكن مـــن العيـــن

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- عينة الـــبراز
- محلول ملحـــي طبيعـــي
- انابيب اختبـــار
- أعواد خشـــبية
- شـــاش
- قمـــع
- جهاز طـــرد مركـــزي
- قطـــارة
- محلول اليـــود.
- مجـــهر .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	خـــذ ٢-٣ جـــرام تقريبـــا مـــن عينـــة البراز وامزجـــها جيـــدا مـــع ٢٠ ملـــل مـــن المحلـــول الملحـــي الطبيعـــي والايـــثر والفورمـــالين .	لعمـــل معلـــق ثـــم للتخلـــص مـــن الدهون ثـــم التثبيـــت .
.٢	صف المعلـــق مـــن خـــلال شـــاش فـــي انبوب اختبـــار.	للتخلـــص مـــن الشـــوائب الكبـــيرة والفضـــلات.
.٣	عـــرض للطـــرد المركـــزي بســـرعة ١٥٠٠-٢٠٠٠ لفـــة/دقيقـــة ولمـــدة دقيقتيـــن.	لفصـــل المـــواد الثقيلـــة عـــن الخفيفـــة.
.٤	خـــذ بوســـاطة قطـــارة مـــن علـــى السطح الســـائل الطـــافي وضـــع قطـــره منـــه علـــى شـــريحة وغطـــها بغطـــاء الشريحة وتفحصـــها تحـــت المجـــهر.	تطبيـــق التعويـــم لفحـــص الطفيليات الخفيفـــة.

٥.	تخلص من الطافي	للابقاء على الراسب فقط
٦.	خذ جزء من الراسب وامزجه مع قطرة من المحلول الملحي الطبيعي او محلول اليود على شريحة زجاجية وغطها بغطاء الشريحة وتفحصها تحت المجهر.	لعمل معلق من الراسب المركز لفحص الطفيليات الثقيلة.
٧.	اكتب طور واسم الطفيل الذي تشاهده من القطرة العائمة او من معلق الراسب.	لاعطاء النتيجة

الكفايـــة العمليـــة -٦٦-

تشخيص حالة الاصابة بالدودة الدبوسية بوساطة تقنية الشريط اللاصق

الــــهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بتقنية الشريط اللاصق لتشـــخيص الاصابــة بــالدودة الدبوسية Enterobius Vermolularis.

المبـــدأ :

يطلب الفحـص عنـد عـدم ظـهور نتـائج ايجابيـة فـي التحضـير الرطـب لعينـة البراز أكـثر مـن مـرة رغـم وجـود الأعـراض السـريرية ويقـوم الشـريط اللاصـق بالتقـاط البيـوض مـن مخبئـها بيـن ثنايـا الشـرج. ويعتمــد علــى المعرفة السابقة بشـكل بيـوض الـدودة الدبوسـية .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- شريط لاصـــق شـــفاف
- شــريحة زجاجيـــة
- قفـــازات
- مجـــهر

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اجلـس المريـض بوضـــع يجعـــل ركبتيـــه علـــى الارض منحنــــي الـرأس والظـهر باتجـاه الامـام بعـد خلعه لملابســـه.	للوصـول الـى الفتحـة الشـــرجية بســهولة.
٢.	ارتدي القفـــازات الواقيـة ثـم احضـر قطعـــة شـــريط لاصـــق شـــفاف وضعـــها علــى فتحـــة الشـــرج واضغط عليـــها قليـلا باتجـاه الداخـل محـاولا ان يلامـس الشـريط بسـطحه اللاصق جميـع منـاطق الشـرج.	للوقايـة -ثـم لجعــل البيـــوض تلتصق بالشـــريط.
٣.	ثبت الشـريط اللاصـق علـى شـريحة زجاجية نظيفـــة.	لكـي تكـون الشـــريحة قـــاعدة للشريط اللاصـــق.
٤.	تفحـص الشـريحة تحـت المجـــهر مستخدما العدســـات الجافـة .	للتأكد من وجـــود البيــوض.
٥.	اكتب التقرير مشيرا الى وجـود او عـدم وجود بيوض الدودة الدبوسية.	لارساله للطبيـــب للمعالجـــة

الكفايـــة العمليـــة -٦٧-

تشخيص الاصابة بالاوليات والديدان الدموية والنسيجية

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى تميـــيز انـــواع واطـــوار الاوليـــات والديـــــدان الدمويـــة والنســـيجية.

المبـــدأ :

يعتمـــد علـــى المعرفـــة الســـابقة بأشـــكال وأطـــوار الأوليـــات والديـــدان الدمويـــة والنسيجية وعلى جمـــع العينـــة الصحيحـــة فـــي الوقـــت الصحيـــح .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- عينـــة دم و/او افـــرازات الانســـجة المصابـــة.
- شرائح زجاجيـــة واغطيـــة شـــرائح
- اصبـــاغ ليشـــمان أو رايـــت .
- زيت غمـــر
- ماء مقطـــر .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	جـــهز شـــريحة لعينـــة دم و/او افـــرازات نســـيجية لموقـــع الاصابـــة بطريقـــة التحضـــير المباشـــر (الرطـــب) و/او بنشـــرها وعمـــل لطخة سواء رقيقـــة ام ســـميكة.	لمشـــاهدة الطـــور المتحـــرك و/او غـــير المتحـــرك.
٢.	غـــط التحضـــير الرطـــب بغطـــاء شـــريحة وشـــاهده تحـــت المجـــهر مستخدما العدســـات الجافـــة.	للحفـــظ الموقـــت والحصـــول علـــى ســـمك ثـــابت للمعلـــق وللمشـــاهدة .
٣.	جفـــف اللطخـــة وتثبتـــها واصبغـــها بطريقـــة جيمســـا او ليشـــمان او رايت وضـــع قطـــرة زيـــت وشـــاهدها مجهريا تحـــت العدســـة الزيتيـــة.	لمشاهدة الطفيـــل مصبوغـــا.
٤.	قـــارن مـــا تـــراه بلوحـــات توضـــح صـــورا لمختلـــف اطـــوار الاوليـــات والديدان الدمويـــة والنســـيجية.	للتعـــرف علـــى طـــور ونـــوع الطفيل الموجـــود .
٥.	اكتب اسم طور الطفيل الاولي او الـــدودة التي شاهدتها على ورقة التقرير.	لإرسالها للطبيـــب .

الكفاية العملية -٦٨-

تحضير لطخة (فيلم) دم رقيق وصبغها

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على عمل لطخة (فيلم) دم رقيق على شريحة زجاجية وصبغها والتعرف على نوع طفيل الدم الموجود.

المبدأ :

يعتمد على استخدام قطرة دم صغيرة الحجم لكي نشاهد الطفيليات وخلايا الدم وهي بعيدة ومتفرقة عن بعضها البعض ليسهل تشخيصها على مستوى النوع والطور .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- شرائح زجاجية نظيفة.
- عينة دم (أو واخزة معقمة مع قطنة مبللة بالكحول).
- صبغة ليشمان أو رايت أو جيمسا.
- مجهر.
- زيت غمر.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ قطرة دم صغيرة من رأس الإصبع بعد وخزه بالواخزة المعقمة أو من عينة وريدية مجموعة في أنبوب اختبار، وضعها على طرف شريحة زجاجية نظيفة.	جمع العينة وتمهيدا لنشرها على الشريحة.
٢.	أنشر قطرة الدم بشكل متناسق وذلك بوساطة وضع شريحة أخرى على حافة قطرة الدم وبزاوية ٤٥ درجة اسحب الشريحة العلوية باتجاه الطرف البعيد عن قطرة الدم.	لتحضير اللطخة (الفيلم).
٣.	جفف الفيلم في الهواء وأوسمه.	تمهيدا للصبغ ولمنع حدوث لبس.
٤.	أصبغ الفيلم بوساطة صبغة ليشمان أو رايت أو جيمسا كما هي واردة لاحقا.	لتسهيل التشخيص.
٥.	جفف باستخدام ورقة ترشيح ثم أضف قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية.	للتخلص من الماء ووضع الزيت ليلعب دور العدسة المكثفة
٦.	ابحث عن الطفيل الموجود وقارن بالصور المتوفرة لديك للتعرف على نوعه.	للاستعانة بالصور للتعرف على الطفيل الموجود.

الكفاية العملية -٦٩-

تحضير لطخة (دم) سميكة وصبغها ومشاهدتها مجهريا

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على عمل لطخة (فيلم) دم سميك على شريحة زجاجية وصبغها والبحث عن وجود طفيليات الدم بعامة والملاريا بخاصة.

المبدأ:

استخدام قطرة دم بحجم كبير لأنها ستحتوي على عدد أكبر من الطفيل في حالة الإصابة.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- شرائح زجاجية نظيفة.
- عينة دم (أو واخزة معقمة مع قطنة مبللة بالكحول).
- صبغة ليشمان أو رايت أو جيمسا أو Field.
- مجهر.
- زيت غمر.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	خذ قطرة دم كبيرة سواءا من وخزة إصبع أو من عينة وريدية ووضعها على وسط شريحة زجاجية نظيفة.	جمع العينة وتمهيدا لنشرها على الشريحة.
.٢	انشر قطرة الدم بوساطة ابرة أو بزاوية الشريحة باتجاه اليمين والشمال.	للحصول على فيلم سميك.
.٣	حاول أن يكون سمك اللطخة لدرجة إمكانية رؤية الإصبع عند وضعه تحت الشريحة.	للتحكم في مقدار السمك.
.٤	جفف الفيلم في الهواء.	تمهيدا لإزالة الهيموجلوبين.
.٥	اغمر الشريحة في محلول خليط من حامض الخليك الثلجي وحامض الترتريك Tartaric acid حتى يزول اللون الأحمر ويصبح الفيلم شاحبا.	لإزالة الهيموجلوبين حتى يسهل رؤية الطفيل.
.٦	اغمر الشريحة في الميثانول لمدة ٣-٥ دقائق.	للتثبيت.
.٧	اغسل الشريحة بماء مقطر قاعدي خفيف.	لإزالة أي اثر للحامض.
.٨	اغمر الشريحة بالماء المقطر لمدة ٥-١٠ دقائق.	لتأكيد عدم وجود أي اثر للمحاليل السابقة.
.٩	اصبغ الشريحة باستخدام صبغة ليشمان أو رايت كما هي واردة لاحقا.	لصبغ الطفيل وخلايا الدم.

.١٠	إذا استخدمت صبغة Field ضع الفيلم في محلول أ المحتوي على الميثيل الأزرق. معBuffer ولمدة ثانية واحدة.	تستخدم خصيصا للكشف عن طفيل الملاريا. واكتساب الصبغة الزرقاء من قبل المواد النووية.
.١١	ضع الشريحة في ماء جار حتى تتوقف الصبغة عن السيلان من على الشريحة.	للتخلص من بقايا الصبغة.
.١٢	ضع الشريحة في محلول ب المحتوى على الايوسين مع Buffer ولمدة ثانية واحدة.	لاكتساب اللون الأحمر من قبل السيتوبلازم.
.١٣	اغمر في ماء نظيف لمدة ٢-٣ ثوان.	للتنظيف والتخلص من بقايا الصبغة.
.١٤	جفف وضع قطرة زيت غمر وشاهد مجهريا تحت العدسة الزيتية.	للتخلص من الماء وتجميع الأشعة من خلال قطرة الزيت.
.١٥	ابحث عن وجود الطفيل بشكل مركز وقارن بالصور المتوفرة لديك.	لتواجد الطفيل بأعداد كبيرة في الفيلم السميك.

الكفاية العملية -٧٠-

عمل لطخة (فيلم) رقيق وسميك على شريحة واحدة.

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على عمل لطخة (فيلم) رقيق وسميك على شريحة زجاجية واحدة وعمل المسح اللازم للعينة.

المبدأ :

يعتمد على استخدام قطرتين من الدم واحدة كبيرة والثانية صغيرة الحجم ليتم الكشف عن وجود الطفيل في الفيلم السميك ومعرفة نوع وطور الطفيل في الفيلم السميك الرقيق .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- شرائح زجاجية نظيفة.
- مجهر.
- عينة دم.
- زيت غمر.
- صبغة جيمسا أو ليشمان أو رايت.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ قطرة دم على بعد نصف إنش من طرف الشريحة وقطرة ثانية على بعد إنش من الطرف الثاني.	لاستخدام الأولي للفيلم السميك والثانية للفيلم الرقيق.
٢.	أزل الهيموجلوبين من الفيلم السميك كما ورد في الفيلم السميك سابقا.	لتسهيل الكشف عن وجود الطفيل.
٣.	حدد فاصلا بين الفيلمين بقلم الرصاص.	للتعامل مع كل فيلم على حده.
٤.	أضف صبغة ليشمان غير المخففة فوق الفيلم الرقيق.	للصبغ.
٥.	خفف بالماء المقطر وأغمر الفيلم السميك كذلك.	لإذابة الرواسب من الصبغة وتسهيل غسل الفائض من الصبغة.
٦.	أو أضف الميثانول ثم جفف.	للتثبيت.
٧.	اغمر الشريحة بصبغة جيمسا المخففة لمدة٣٠-٦٠ ثانية.	للصبغ.
٨.	اغسل وجفف وأضف قطرة الزيت وشاهد تحت المجهر.	للتخلص من الصبغة ثم من الماء ثم لتوضيح الرؤيا.

الكفايـــة العمليـــة -٧١-

الكشف عن وجود الدم الخفي Occult Blood في عينات البراز

الـــهدف :

ان يكون الطـــالب قـــادرا علـــى القيـــام بـــاجراءات الكشـــف عـــن وجـــود دم خفـــي في عينات الــــبراز.

المبـــدأ :

يعتمـــــد علـــــى التفـــــاعل بيـــــن الـــــهميجلوبين الــــــذي يقـــــوم بـــــدور Oxidase مــــع Strontium Peroxide ويعطـــــي أكســـجين حـــــر ليؤكســـــد Orthotolidin ويحـــول لونـــه الأصفـــر إلـــى اللـــون الأزرق أو الأخضـــر .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة بـــراز
- أعواد خشـــبية
- ورقة الترشـــيح الخاصـــة بـــالفحص
- محلـــول الفحــــص (Strontium Peroxide & Orthotolidin) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خـــذ جـــزء بســـيط مـــن عينـــة الــــبراز بوســـاطة عـــود خشـــبي وانشـــرها علـــى ورقة الترشـــيح الخاصـــة بـــها محضـــرا لطخة برازيـــة.	عمـــل لطخـــة برازيـــة علـــى ورقة الفحــــص.
٢.	اضف الـــى اللطخـــة قطـــرة أو قطرتيـــن من محلـــول الفحـــص .	لجعـــل محلـــول الفحــــص يتفاعل مع الـــدم ان وجـــد.
٣.	لاحـــظ تكـــون لـــون ازرق ليـــدل علـــى النتيجة الايجابيـــة.	بســـبب تأكســـد Orthotolidin
٤.	قـــارن اللـــون المتكـــون مـــع اللـــون المعيـــاري الايجـــابي Positive Control المرفـــق علـــى ورقـــة الفحـــص.	للتحقق مـــن صلاحيـــة محلـــول ورقـــة الفحـــص ولمقارنـــة النتيجـــة.

الكفاية العملية -٧٢-

عمل تحضير دائم لعينة براز وصبغه ومشاهدته مجهريا

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على عمل تحضير دائم لعينة براز وحفظ العينة على شكل تحضير دائم.

المبدأ:

يعتمد على تجفيف التحضير وصبغه وتغطيته بوسط تغطية مناسب مع غطاء للشريحة .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- شريحة وغطاء شريحة.
- العينة.
- محلول Schaudinn.
- محلول كحول ٧٠% ,٩٥ % ,١٠٠%.
- محلول شبة الحديد.
- صبغة الهيماتوكسلين.
- حامض البكريك.
- محلول الزايلين
- كندا بلسم

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع قطرة من محلول ملحي طبيعي على شريحة زجاجية ثم أضف إليها قليلا من عينة البراز وامزج وانشر.	تحضير المعلق ثم اللطخة Smear
٢.	أضف إلى اللطخة محلول Schaudinn المضاف إليه حامض الخليك الثلجي المسخن إلى درجة ٦٠م لمدة دقيقتين.	التثبيت.
٣.	اغمر اللطخة في ٧٠% كحول مضافا إليه كمية من اليود ثم في ٥٠% كحول لمدة دقيقتين لكل منهما.	للتمييه.
٤.	اغسل بالماء الجاري لمدة دقيقتين.	للتخلص من بقايا الكحول واليود.
٥.	أغمر الشريحة في ٢% محلول شبة الحديد تحت درجة ٤٠م لمدة دقيقتين.	كمحول مرسخ.
٦.	اغسل بالماء الجاري لمدة ثلاث دقائق.	للتخلص من المحلول السابق.
٧.	اغمر اللطخة في صبغة الهيماتوكسلين لمدة ١٠-١٥ دقيقة.	لصبغ المواد النووية.
٨.	اغسل بالماء الجاري لمدة دقيقتين.	للتخلص من بقايا الصبغة.
٩.	أضف محلولا مشبعا من حامض البكريك لمدة ٥ دقائق.	محلول تمييز .

	البكريك لمدة ٥ دقائق.	
.١٠	اغسل بالماء الجاري لمدة ١٠-١٥ دقيقة.	للتخلص من بقايا المحلول السابق.
.١١	اغمر الشريحة في كحول ٧٠% ثم ٩٥% ثم كحول مطلق لمدة دقيقتين لكل تركيز.	لسحب الماء من التحضير.
.١٢	اغمر الشريحة في محلول الزايلين Xylene لمدة ٣٠-٦٠ ثانية.	للتنقية والتشفيف.
.١٣	أضف قطرة من كندا بلسم Canada Balsam إلى اللطخة وغطها بغطاء شريحة زجاجي مناسب واسمح لها بالجفاف.	لحفظ التحضير وتثبيت غطاء الشريحة عليه.

الفصل الثالث

علم المناعة والأمصال

Immunology & Serology

الكفاية العملية -٧٣-

اخضاع عينة المصل للمعالجة لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على معالجة عينة المصل قبل الشروع بفحصها لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة وتشمل :
أ -معالجة فيزيائية (تكسيل Inactivation)
ب-معالجة مناعية .

المبدأ :

التخلص من المكمل ومن الأجسام المضادة غير المتخصصة لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة المصل + حمام مائي .
- Buffer + معلق انتجيني غير متخصص .

الرقم	الخطوات	المبررات
	أ. معالجة فيزيائية :	
١.	اسحب عينة الدم واسمح بتجلطها .	مصدر العينة
٢.	افصل باستخدام الطرد المركزي .	للحصول على المصل الصافي
٣.	اسحب عينة المصل وضعها في انبوب اختبار نظيف .	لعزل المصل عن باقي الدم.
٤.	ضع انبوب المصل في حمام مائي تحت درجة ٥٦م لمدة ٣٠ دقيقة .	لتثبيط المكمل والاجسام المضادة غير المتخصصة التي تتأثر بالحرارة.
٥.	اخرج عينة المصل بعد ذلك لتصبح جاهزة للفحص .	لانتهاء فترة التكسيل .
	ب. معالجة مناعية :	
١.	خذ كمية محدودة من المصل ولتكن ٠,١ ملل	العينة موضوع المعالجة .
٢.	اضف اليها محلول منظم مثل BABS ولتكن ٠,٤ ملل .	وسط جيد للتفاعل .

٣.	اضف اليها معلق انتجين غير متخصص ولتكن ٠,٥ ملل .	للتفاعل مع الاجسام المضادة غير المتخصصة وسحبها من العينة .
٤.	امزج وانتظر تحت درجة حرارة الغرفة .	حضانة للتفاعل .
٥.	رسب باستخدام الطرد المركزي وتخلص من الراسب بسحب الطافي (المصل المعالج) .	لفصل المصل المعالج عن بقية المواد .

استخدام تفاعل التخثر باللاتكس على الشريحة

Test Slide Latex Agglutination

في الفحوصات التالية :

RPR, VDRL, CRP, R.F, Brucella, Pregnancy test,

الـــهدف :

ان يكون الطـــالب قـــادرا علـــى القيـــام بتفـــاعل التخـــثر علـــى الشـــريحة لتشـــخيص أي مرض يقوم مبـــدأه علـــى التخـــثر .

المبـــدأ :

يعتمـــد علـــى إضافـــة الانتيجيـــن أو الجســـم المضـــاد (المعلـــوم) للكشـــــف عــــن (المجـــهول) الجســـم المضـــاد أو الأنتيجيـــن. وذلـــك بســـــبب التخصصيـــــة فـــي التفـــاعل بينـــهما وفـــي وجـــود الكاشـــف يظـــهر تكتـــلا أو تجمعـــا كمؤشـــر علـــى ايجابية التفـــاعل.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- شريحة خاصـــــة للفحـــص .
- الانتجيـــن الخـــاص بـــالفحص اذا اريـــد الكشـــف عـــن الاجســـام المضـــادة فـــي العينـــة .
- الاجســـام المضـــادة الخاصـــة بـــالفحص اذا اريـــد الكشـــف عـــن الانتجيـــن فـــي العينـــة .
- عينـــة دم او بـــول .
- عـــودان خشـــبيان ، قطـــارة .
- جهاز طـــرد مركـــزي .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اجمع عينة الـــدم واســـمح لـــها بـــالتجلط ثـــم افصل المصل بـــدون تحلـــل .	الحصـــول علـــى مصـــل صافي خالي مـــن التحلـــل.
٢.	اذا كانت عينـــة البـــول عكـــرة رســـب علـــى جهاز الطـــرد المركـــزي .	التخلـــص مـــن العكـــــورة لتجنـــب ظـــــهور نتـــائج ايجابية خاطئـــة .
٣.	اضـــف قطـــرة مـــن العينـــة الـــــى حلقـــة الشـــريحة .	الشـــروع بـــالفحص .

٤.	اضف الى العينة قطرة من محلول التجربة (انتجين او اجسام مضادة) .	فتح مجال لبدء التفاعل بين الانتجين والجسم المضاد .
٥.	امزج القطرتين بوساطة عود خشبي مزجا جيدا .	لقاء المتفاعلان .
٦.	حرك الشريحة يمينا ويسارا بشكل دوراني للفترة الزمنية الموضحة في نشرة الشركة الصانعة لمواد الفحص .	اعطاء زمن لحدوث التفاعل .
٧.	عامل المصل الايجابي والسلبي بنفس المعاملة .	للتحقق من صلاحية المواد ومقارنة نتيجة الفحص بالنتيجة الايجابية الضابطة (Control) .
٨.	اقرأ النتيجة بعد الزمن اللازم والموضح في النشرة وقارن بنتيجة الضابط الايجابي .	اخذ النتيجة .

الكفايـــة العمليـــة -٧٥-

الكشف عن الحمل باستخدام تفاعل منع التخثر على الشريحة (Agglutination Inhibition)

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى اجـــراء فحـــص الحمـــل او أي فحـــص يخضـــع لنفس المبدأ واخذ النتيجـــة الصحيحـــة بطريقـــة منـــع التخـــثر.

المبـــدأ :

يعتمـــد علـــى مفاعلـــة عينـــة البـــول كحـــامل لـــهرمون GCH واستخدام جسم مضاد لـــهرمون كامل واضافـــة المضـــادة فـــإذا كـــان الـــهرمون موجـــودا ســـيتكون مركبـــا مناعيـــا وعنـــد إضافـــة جامـــا جلوبيوليـــن مغطـــي لجزيئـــات اللاتكـــس (كاشـــف) أو هرمـــون HCG مغطـــي لجزيئـــات اللاتكـــس فلـــن يحصـــل تخـــثرا وهـــذا يـــدل علـــى النتيجـــة الايجابية، بينما إذا لـــم يتوفـــر الـــهرمون فـــي العينـــة فلـــن يتكـــون مركبـــا مناعيـــا وعنـــد إضافـــة الجامـــا جلوبيوليـــن مـــع اللاتكـــس أو HCG مـــع اللاتكـــس ســـوف يتفاعل مع الأجسام المضادة ويظـــهر تخـــثرا ليـــدل علـــى النتيجـــة الســـلبية .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- شرائح خاصـــة بـــالفحص.
- عينة بـــول صافيـــة
- عينة مصـــل
- اجسام مضـــادة لـــ HCG
- محلول (globulin-δ) أو HCG مغطي للأتكس
- عـــودان خشـــبيان او بلاســـتيكيان.
- محاليل معياريـــة ايجابيـــة وســـلبية.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	حضر شريحة سوداء نظيفة ثم اضف اليها قطرة من البول او المصل .	الشـــروع بـــالفحص وإضافـــة العينـــات.
.٢	اضف الى قطرة البول او المصل قطـــرة من محلول الأجسام المضـــادة للـــهرمون (HCG)-Anti	للقاء بيـــن HCG فـــي العينـــة مـــع مضـــاده
.٣	اضـــف اليـــهما قطـــرة مـــن محلـــول (δ-globulin) مغطي لجزيئات اللأتكـــس أو HCG مغطـــي لجزيئـــات اللاتكـــس وامزج باستخدام عود خشبي او بلاستيكي.	لكي يتفاعل مع HCG-Anti اذا لم يحدث تفاعل في الخطوة السابقة مع HCG في العينة (كاشف) .

.٤	عامل المحلول المعياري السلبي والايجابي بنفس المعاملة .	للتأكد من صلاحية المواد ومقارنة نتيجة الفحص بها.
.٥	حرك الشريحة بالدوران لمدة ٢-٣ دقائق او حسب تعلميات نشرة الشركة الصانعة.	لاعطاء فرصة لحدوث التفاعل .
.٦	لاحظ ظهور التخثر من عدمه .	اذا ظهر تخثر دل على النتيجة السلبية اذا لم يظهر تخثر دل على النتيجة الايجابية .يجب ان يظهر تخثرا في قطرة المحلول السلبي ولا يظهر تخثرا في المحلول الايجابي .

الكفاية العملية -٧٦-

المعايرة المصلية للفحوصات ASO,Widal,Brucella,TORCH

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على حساب التخفيفات المتدرجة المختلفة وإجراء ذلك في أنابيب الاختبار لاستخدامها في الفحوصات المصلية المذكورة أعلاه .

المبدأ :

يعتمد على عمل تراكيز متفاوتة لعينة مصل أو أية عينة أخرى ويحتاج ذلك إلى حسابات تعتمد على نظام التخفيف المطلوب سواء تضاعفيا أم عشريا . ويعتمد كذلك على معرفة التركيز الطبيعي للمادة المراد معرفة تركيزها سواء الأنتيجين أو الجسم المضاد وعند عمل تخفيف متدرج للعينة يضاف إليها كمية ثابتة من المتفاعل الآخر وتؤخذ النتيجة على أساس أعلى تخفيف يظهر نتيجة ايجابية .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة مصل
- ماصات .
- انتجينات
- أنابيب اختبار .
- كاشف (مثل معلق خلايا حمراء) .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	حضر عددا من الأنابيب النظيفة حسب عدد التخافيف المراد تحضيرها ورقمها ١،٢،٣،٤.... الخ .	أوعية لإجراء التخفيف .
.٢	أ-اضف ,٩ ملل من محلول التخفيف الى جميع الانابيب، ثم اضف الى الانبوب رقم (١) ,١ ملل من العينة، امزج جيدا، انقل ,١ ملل من الانبوب رقم (١) الى الانبوب رقم (٢) ثم امزج جيدا، انقل ,١ ملل من الانبوب رقم(٢) الى رقم (٣) ثم من (٣) الى (٤) وهكذا، خذ ,١ ملل من الانبوب الاخير وتخلص منه خارجا. ب-اضف ١ ملل من محلول التخفيف Buffer) or N.S) الى جميع الانابيب، اضف الى الانبوب رقم (١) ١ ملل من العينة، امزج ثم انقل ١ ملل من الانبوب رقم (١) الى الانبوب رقم(٢) ثم امزج وانقل ١ ملل من (٢) الى (٣) وهكذا.	خطوات التخفيف العشري ١٠، ١٠٠، ١٠٠٠، .... الخ. خطوات التخفيف التضاعفي ٢٠، ٤٠، ٨٠،.... الخ .
.٣	أضف كمية ثابتة من المتفاعل الاخر (الانتجين او الجسم المضاد) .	لاتمام لقاء المتفاعلان (Ab+Ag)

٤.	احضن في درجة حرارة مناسبة ولمدة مناسبة حسب التعلميات	لتزويده بظروف التفاعل المناسبة
٥.	اضف الكاشف	لاظهار النتائج .
٦.	احضن في درجة الحرارة المناسبة والوقت المناسب حسب التعليمات.	لاعطاء الكاشف فرصة لاظهار النتيجة .
٧.	اقرأ النتيجة كأعلى تخفيف يظهر نتيجة ايجابية .	اخذ النتيجة النهائية .

اجراء تجربة تثبيط تخثر الدم

Haemagglutination Inhibition Test

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تجربة تثبيط تخثر الدم وقراءة النتيجة .

المبدأ :

عند إضافة انتيجين متخصص لأجسام مضادة في عينة مجهولة فإن مركبا مناعيا يتكون وعند إضافة معلق خلايا حمراء لن يحصل تخثرا ونقول بأن وجود الأجسام المضادة تثبط تخثر الدم بفعل الأنتجين بينما إذا لم تتواجد الأجسام المضادة في العينة فإن الأنتيجين سيتفاعل مع الخلايا الحمراء ويحصل تخثرا مشيرا للنتيجة السلبية . يمكن البحث في عينة المصل عن الأنتجين أحيانا بدلا من الأجسام المضادة ويعتمد ذلك على نوع الفحص .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة مصل المريض وتمثل الاجسام المضادة اوالانتجين .
- معلق خلايا حمراء مثبتة .
- انتجين / او اجسام مضادة .
- محلول منظم Buffer .
- انابيب اختبار وماصات .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	عالج المصل مناعيا أو فيزيائيا. وحسب تعليمات الشركة الصانعة .	لتجنب حدوث نتائج ايجابية خاطئة
.٢	حضر انابيب اختبار بعدد مرات التخفيف المطلوب .	لاجراء التفاعلات فيها .
.٣	حضر تخفيف متدرج لعينة المصل في الانابيب مع المحلول المنظم .Buffer	للحصول على تركيز الاجسام المضادة او الانتجين في العينة.
.٤	اضف كمية ثابتة من الانتجين اذا كان الهدف الكشف عن الاجسام المضادة والعكس صحيح .	اضافة المتفاعل الثاني .
.٥	احضن في درجة حرارة ولوقت مناسبين حسب التعليمات .	لاعطاء فرصة للتفاعل في اجواء ولفترة مناسبة .

٦.	اضف معلق الخلايا الحمراء واحضن حسب التعليمات.	اضافة الكاشف وتزويده بالظروف والوقت المناسبين للتفاعل.
٧.	خذ النتيجة كأعلى تخفيف يظهر عدم تخثر .	قراءة النتيجة النهائية .
٨.	يجب على الضابط السلبي .Neg Control ان يظهر تخثرا كاملا.	التحقق من صلاحية المواد والمقارنة به كأنموذج للنتيجة .

الكفايـــة العمليـــة -٧٨-

اجراء تفاعل الترسيب بالانتشار الثنائي على الآجار
Agar double diffusion

الـــهدف :

ان يكـون الطـالب قـادرا علـى اجـراء تفـاعل الترسـيب باسـتخدام تقنيةالانتشـار الثنـائي علـى طبـق يحـوي آجـار Agar وان يكـون قـادرا علـى تميـيز خـط الترسيب المتكـون بيـن المتفـاعلين .

المبـدأ :

يعتمـد علـى انتشـار المتفـاعلين باتجـاه بعضـهما البعـض وعنـد اللقـاء يتكـون راسب أبيض يظهر بوضـوح علـى سـطح الآجـار .

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـة :

- طبق بـتري يحتـوي علـى آجـار Agar .
- عينة المريـض (تمثـل الانتجيـن او الجسـم المضـاد)
- المتفاعل الآخـر (يمثـل الجسـم المضـاد او الانتجيـن) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	افتـح حفرتيـن منتظمتيـن شـكلا وحجمـا في الاجار متبـاعدتين بحوالـي ١سـم.	عمل وعـاء للمتفـاعلين .
٢.	امـلأ احداهمـا بمصـل المريـض وامـلأ الاخرى بالمتفـاعل الثـاني (اذا كـان	لحـدوث لقـاء بيـن المتفاعلين الأنتجيـن
	الهدف من التجربة الكشف عن الانتجين فـي دم المريض فيجب اضافة اجسام مضادة متخصصـة والعكس صحيح) .	والجسم المضـاد .
٣.	ضـع الطبـق فـي الثلاجـة لمـدة ٤-٦ ساعات ، ثم اقـرأ النتيجـة .	درجـة حـرارة مناسـبة لاتمام التفـاعل.
٤.	ان تكون خـط ترسـيب بلـون ابيـض بيـن الحفرتين يدل علـى النتجيـة الايجابيـة.	مؤشـر علـى النتيجـة الايجابيـة.
٥.	عـامل عينـة ضابطـة ايجابيـة بنفـس المعاملـة .	للتـأكد مـن صلاحيـة المـواد ومشـاهدة انمـوذج النتيجة الايجابيـة .

الكفاية العملية -٧٩-

إجراء تجربة حساسية الجلد

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات فحص حساسية الجلد.

المبدأ :

يحقن الإنسان بالأنتجين للكشف عن وجود الأجسام المضادة أو بالأجسام المضادة للكشف عن الأنتجين أو بالمضاد الحيوي لمعرفة حساسية الشخص لذلك المضاد الحيوي.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- حقنة مع إبرة رفيعة.
- قطنة مبللة بالكحول.
- المادة المراد حقنها في الجسم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	إملأ الحقنة بالمادة المراد حقنها في الجسم	لتجهيزها للحقن
٢.	امسح باطن ذراع المريض بالكحول بشكل جيد.	للتطهير ومنع تلوث الجرح
٣.	انزع غطاء الإبرة وأغرس رأس الإبرة تحت الجلد وادخلها أفقيا لمسافة ٥,سم	تمهيدا لتفريغ المادة المراد حقنها ولتجنب دخول الإبرة إلى الأنسجة تحت الجلدية.
٤.	ارفع رأس الإبرة إلى الأعلى قليلا لترى ارتفاع الجلد.	للتأكد من أن رأس الإبرة تحت الجلد بشكل صحيح.
٥.	فرغ حوالي ٥, ملل من المادة تحت الجلد.	عملية الحقن لملاحظة التفاعل.
٦.	ارسم دائرة حول قطرة الحقن بقطر ٥ سم تقريبا في حالة المضادات الحيوية وانتظر المدة اللازمة في تعليمات الفحص (١٥-٣٠ دقيقة للمضادات الحيوية).	تعتبر مساحة مناسبة لإصدار الحكم على النتيجة والانتظار لإتمام التفاعل.
٧.	لاحظ امتلاء الدائرة بالاحمرار من عدمه.	لتدل على النتيجة الإيجابية
٨.	قد نحتاج في بعض فحوصات تحسس الجلد إلى حقنة ضابطة Control إيجابية أو سلبية أو الاثنتين.	لمقارنة النتائج والتأكد من صلاحية المواد المستخدمة.

الكفاية العملية -٨٠-

استخدام تخثر الدم في الكشف عن الأجسام المضاد الباردة لـــ M.pneumonia

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات فحص الكشف عن الأجسام المضادة البـــاردة لـــ M.pneumonia وتفسير النتيجة.

المبدأ :

تستطيع الأجسام المضادة للمايكوبلازما أن تخثر الخلايا الحمراء للإنســان تحــت درجــة صفر -٤ مئوية وليس ٣٧ مئوية , ولذلك سميت بالأجسام المضادة الباردة المخــثرة Cold agglutinins . يمكن تشتيت وتبديد هذا التخثر إذا وضعت بدرجة ٣٧ مئوية.
يعتبر التركيز الطبيعي لهذه الأجسام المضادة ٤٠ وإذا كان التركيز ١٦٠ فما فوق تكــون النتيجة تشخيصية لالتهاب الرئة بالمايكوبلازما.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- عينة مصل.
- معلق خلايا حمراء مغسولة من فصيلة O
- أنابيب اختبار.
- ثلاجة.
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	إجمع عينة دم المريض وافصل المصل بدرجة حرارة٣٧ مئوية.	لان الأجسام المضــادة المــراد البحث عنها موجودة في مصـل المريض.
.٢	حضر معلق خلايا حمراء مغسولة من فصيلةO	سيســتخدم كــأنتجين ولان الفصيلةO خالية من الأنتجينات.
.٣	خفف مصل المريض تدريجيا Serial dilution ثم أضف إليه كمية ثابتة من الأنتجين تتناســب مع حجم المصل المخفف.	للحصول على تراكيز متدرجــة من الأجســام المضــادة فــي المصل.
.٤	أحضن في الثلاجة لليوم التالي.	درجة حرارة الحضانة ولإعطاء التفاعل مدة كافية.
.٥	أخرج الأنبوب من الثلاجة وتفحصه .	لملاحظة التخثر وأخذ النتيجة .
.٦	سخن الأنابيب لدرجة ٣٧م ثم اقرأ بعد ساعتين	للتأكد من أن التخثر نتج عــن وجود الأجسام المضادة المخثرة ولأنه سيختفي بالحرارة.

٧.	يفضـــل اســتخدام مصـــل معيـــاري ايجـــابي +ve control	للمقارنة والتأكد من صلاحيـــة المواد.

الكفاية العملية -٨١-

استخدام فحص Paul-Bunnel لتشخيص داء وحيدات النواة الأنتاني أو الحمى الغدية Infectious mononucleosis

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات فحص Bunnel–Paul واخذ النتيجة.

المبدأ:

يتسبب هذا المرض من فيروس اسمه Epstein-Barr من مجموعة الهربس ونتيجة لذلك تتكون أجسام مضاده مختر للخلايا الحمراء للخراف والبقر والثيران ولا تتفاعل هذه الأجسام المضادة مع انتجينات كلية الخنزير الأفريقيGuinea-pig تلتصق الأجسام المضادة المتخصصة مع الخلايا الحمراء للخراف والبقر والثيران لأنها متخصصة بينما تلتصق الأجسام المضادة غير المتخصصةHeterophil Abs مع انتجينات كلية الخنزير الأفريقي ويتم مفاعلة مصل المريض مع انتجينات كلية الخنزير الأفريقي للتخلص من الأجسام المضادة غير المتخصصة لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة للفحص. تتفاعل الأجسام المضادة للفيروس مع انتجين لولبيات الزهري ولذلك لا تعتبر نتيجة الفحص قطعية confirmatory.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- عينة مصل المريض
- حمام مائي
- انتجينات Paul-Bunnell

والمكونة من:

أ. خلايا كلية الخنزير الأفريقي.

ب. الخلايا الحمراء للثور.

- معلق خلايا حمراء للخراف ٢% في محلول ملحي.
- أنابيب اختبار.
- جهاز طرد مركزي.
- مرآة مقعرة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	سخن عينة المصل في الحمام المائي تحت ٥٦ درجة مئوية لمدة ٣٠ دقيقة.	للتكسيل ولتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة.
٢.	حضر ٣ أنابيب اختبار مضيفا للأول ٢, ملل مصل و٨, ملل محلول ملحي طبيعي. وللثاني ٢, ملل مصل و٨, ملل انتيجين كلية الخنزير الافريقي وللثالث ٢, ملل مصل و٨, ملل انتيجين الخلايا الحمراء للثور .	يعتبر الأنبوب الأول ضابط سلبي Neg.Control وفي الثاني يتم التخلص من الأجسام المضادة غير المتخصصة لتجنب النتائج الإيجابية الخاطئة , وفي الثالث تلتصق الأجسام المضادة المتخصصة فقط مع الخلايا الحمراء للثور.

.٣	انتظر لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة مع التحريك بين الوقت والآخر.	فترة وظروف مناسبين للتفاعل.
.٤	رسب باستخدام جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق واجمع الطافي.	لتجميع الأجسام المضادة المرتبطة مع الأنتجينات المضافة في الخطوة قبل السابقة في الراسب ويحتوى الطافي على أجسام مضادة متخصصة في الأنبوب الثاني وسيحتوي طافي الأنبوب الثالث على أجسام مضادة غير متخصصة بينما يحتوي الأول على الجميع.
.٥	جهز ٣ سلاسل من التخفيف المتدرج للمحلول الطافي من الأنابيب الثلاثة الواردة في الخطوة السابقة حيث يكون تخفيف المصل ١:٥ وأضف إليها محلول ملحي طبيعي بطريقة التخفيف المتدرج ليصبح التخفيف ١:٥ , ١:١٠, ١:٢٠ وحتى ١:٥١٢٠ وأنبوب Control ضابط للخلايا الحمراء.	لعمل تخفيف متدرج للعينة بعد المعالجة ومفاعلتها مع معلق الخلايا الحمراء للخراف وملاحظة أعلى تخفيف يظهر نتيجة إيجابية.
.٦	أضف إلى كل أنبوب كمية ثابتة من معلق الخلايا الحمراء للخراف.	لإظهار تخثر مع الأجسام المضادة لفيروس EB
.٧	امزج جيدا وانتظر لمدة ١٠ دقائق بدرجة حرارة الغرفة.	فترة حضانة للتفاعل.
.٨	رسب مركزيا لمدة ٥ دقائق.	لمنع حدوث لبس في قراءة النتيجة.
.٩	اقرأ النتيجة فوق مرآة مقعرة حيث يظهر المريض تركيزا أعلى من ٨٠ ويظهر المصل التصاقا لأنتجين الخلايا الحمراء للثور ولا يظهر التصاقا لأنتجين كلية الخنزير الأفريقي.	لتوضيح التخثر ولان المعدل الطبيعي مساوي أو أقل من ٨٠ ولان مصل المريض يحتوي على أجسام مضادة متخصصة تتفاعل مع الخلايا الحمراء للثور.

الفصل الرابع

علم التحضير المجهري

Microtechniques

الكفايـــة العمليـــة -٨٢-

اتخاذ اجراءات السلامة في مختبر الانسجة .

الــهدف :

ان يكــون الطـــالب قـــادرا علـــى القيـــام بـــاجراءات الســلامة فـــي مختـــبر الانســـجة لتوفير بيئة عمـــل آمنـــة .

المبـدأ:

يعتمـــد علـــى المعرفـــة الســـابقة للحـــوادث المتوقـــع حدوثـــها وإجـــراءات الوقايـــــة منـــها .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- قفازات واقيـــــة .
- صابون ومـــــاء
- اقنعة واقيـــــة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استعمل القفـــازات الواقيـــة عنـــد التعـــامل مـــع العينـــات	لحماية الايـــدي مـــن التلـــوث والمحـــاليل
٢.	ضع قنـــاع علـــى الوجـــه عنـــد التعـــامل مـــع العينـــات والمحـــاليل والاصبـــاغ والاحمـــاض	لحمايـــة الجـــهاز التنفســـي من ابخـــرة المحـــاليل.
٣.	اســـتلم العينـــات فـــي غرفـــة خاصـــة جيـــدة التهوية وبطـــاولات ناعمـــة ملســـاء	لتســـــهيل تنظيفـــــها وتعقيمـــها.
٤.	عـــالج عينـــات الخلايـــا التقشـــرية وعينـــات القطع الجليـــدي فـــي حجـــرة خاصـــة متصلـــة بنظام تهوية جيـــد ونظـــام تعقيـــم .	لتجنـــب انتشـــار الابخـــرة في الغرفـــة .
٥.	تجنـــب اشـــعال النـــار فـــي المختـــبر عنـــد تعـــاملك مـــع محـــاليل معالجـــة الانســـجة سريعة الاشـــتعال .	لتجنب نشـــوب حريـــق
٦.	احـــرص علـــى توفـــر مطفئـــة حريـــق فعالـــة وتدرب علـــى استـــعمالها .	لاستعمالها فـــي الطـــوارئ
٧.	تجنب تعريض يديـــك لســـكين المبشـــرة.	لتجنب حـــدوث جـــروح.
٨.	احرص على التعـــامل مـــع المـــواد والمحـــاليل المسرطنة داخل خزانة الســـلامة fume hood جيدة التهوية والتعقيم .	لتجنـــب الاصابـــة بـــالاورام الســـرطانية
٩.	اغســـل يديـــك بالمـــاء والصـــابون عنـــد انتهاءك مـــن العمـــل.	لاســـتعمالها بعـــد ذلـــك بشكل طبيعـــي

الكفايـــة العمليـــة -٨٣-

استقبال العينة النسيجية ووسمها وتسجيلها حسب الاصول

الــــهدف :

ان يكون الطـــالب قـــادرا علـــى اتمـــام اجـــراءات اســـتقبال العينـــة النســـيجية ووســـمها وتسجيلها حسب الاصـــول لمنـــع حـــدوث أي خطـــأ بيـــن النتيجـــة والمريـــض.

المبـــدأ:

يعتمد على معرفـــــة ســـابقة لكيفيـــة وســـم العينـــة وتســـجيلها فـــي الدفـــاتر الخاصـــة بذلك بحيـــث تعتمـــد بعـــض المختـــبرات فـــي ذلـــك علـــى إعطـــاء رقـــم متسلســـل للمريض ثم يليه تاريخ اليوم ثـــم الشـــهر ثـــم الســـنة .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- قلم حـــبر
- دفتر سجلات خـــاص بذلـــك
- محفظـــات (كبســـولات بلاســـتيكية)
- قلم رصـــاص

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اســـتلم العينـــة فـــي الوعـــاء المناســـب المثبت عليـــه ملصـــق مكتـــوب عليـــه اســـم المريـــض وعمـــره وجنســـه ومصـــدر العينـــة واســـم الطبيـــب وقســـمه مـــع أ نمـــوذج طبـــي موضحـــا عليـــه مـــا ســـبق مـــن معلومـــات ومضافـــا اليـــه الســـيرة المرضيـــة والتشـــخيص الســـريري.	عدم حدوث خلـــل فـــي العينـــات والنتائج من حيث اصـــدار نتـــائج لغير اصحابها وللتأكد من تطـــابق المعلومات على ورقة التحويل ووعاء العينـــة .
٢.	سجل العينة فـــي ســـجل عـــام لتعطـــي كـــل عينـــة رقمـــا متسلســـلا واســـم المريـــض وتـــاريخ اســـتلام العينـــة وعمـــر المريـــض وجنســـه ومصـــدر العينـــة واســـم الطبيـــب المرســـل وقســـمه والتشـــخيص المجـــهري (بعـــد الفحـــص) وتـــاريخ ارســـال النتيجـــة الى الطبيـــب المعـــالج.	للرجوع اليه حيـــن الضـــرورة.

الكفاية العملية -٨٤-

مساعدة الطبيب في اخذ الصفات الظاهرية للعينة النسيجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على مساعدة الطبيب الاخصائي في علم الامراض على اخذ الصفات العيانية (الظاهرية) للعينة النسيجية وتسجيلها.

المبدأ:

يعتمد على قدرة الفني على فهم المصطلحات الخاصة بالصفات الظاهرية للعينة وقدرته على كتابتها وبسرعة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- قلم حبر وقلم رصاص
- ورقة الانموذج المرفق مع العينة.
- ميزان ومسطرة
- مشارط وملاقط
- قفازات وأقنعة وجهية.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	البس انت والطبيب القفازات والقناع.	لاتقاء ضرر المحاليل وابخرتها.
٢.	اكتب ما يمليه عليك الطبيب الاختصاصي في علم الامراض من صفات ظاهرية للعينة من حيث ابعاد العينة (حجمها) ولونها ووزنها ووجود تقرحات او تورمات او أي شيء غير طبيعي يمكن ملاحظته على ورقة الانموذج المرفق.	اخذ الصفات الظاهرية للعينة.
٣.	سجل عدد القطع النسيجية التي اخذها الطبيب على الانموذج .	للتأكد من توافق عدد الشرائح المحضرة مع عدد القطع النسيجية.
٤.	سجل رقم المريض على المحفظة (الكابسولة التي ستحوي القطع النسيجية).	لتجنب الوقوع في أي خطأ
٥.	ضع الكابسولات الحاوية للعينات في سلة خاصة بذلك .	تمهيدا للبدء في معالجتها.

الكفاية العملية -٨٥-

ازالة الكلس من العينة النسيجية

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادرا على اجراء خطوات ازالة الكلس من العينة النسيجية .

٢. ان يكون الطالب قادرا على اجراء خطوات التحقق من انتهاء عملية ازالة الكلس من العينة النسيجية المتكلسة كيميائيا .

المبدأ:

يعتمد على سحب ايونات الكالسيوم بفعل الحامض من العينة وطرحها في محلول الإزالة ثم فحص هذا المحلول للتأكد من خلوه من أيونات الكالسيوم .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول نزع الكلس (حامض مثل حامض النيتريك بتركيز ٥% او حامض الفورميك) .
- خيط
- ماصات .
- انابيب اختبار
- عينة
- مصدر تسخين وحركة دائمة .
- محلول امونيا مركز
- محلول اوكسلات الامونيوم المائية .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	علق العينة بحيث تكون مغمورة في الثلث الاعلى من محلول نزع الكلس (حجم المحلول ٤-٢٠ ضعف) من حجم العينة .	حتى تحاط العينة بالمحلول من جميع الجهات .
٢.	حرك العينة في المحلول وارفع درجة حرارة المحلول لتسريع العملية .	لزيادة كفاءة وسرعة النزع .
٣.	ضع في انبوب اختبار فارغ ٥ ملل من المحلول المغمورة فيه العينة .	هذا المحلول هو مصدر التجربة .
٤.	ضع ورقة عباد الشمس في المحلول سيتحول لونها الى الاحمر نتيجة حامضية المحلول .	للتحقق من PH المحلول.
٥.	اضف قطرات من الامونيا المركزة حتى يتحول لون ورقة عباد الشمس الى الازرق.	للمعايرة حتى يتحول المحلول الحامضي الى القاعدي .

.٦	اذا تعكر المحلول اعد العينة الى محلول نزع جديد .	دلالة على وجود ايونات الكالسيوم.
.٧	اذا بقي المحلول صافيا بعد اضافة الامونيا نضيف محلول اوكسلات الامونيوم المائية ولمدة ٣٠ دقيقة، فاذا حدث تعكرا يعني عدم انتهاء العملية لذلك.	للتفاعل مع الكالسيوم وتكوين عكورة .
.٨	اعد العينة الى محلول النزع، اما اذا بقي المحلول صافيا فمعنى ذلك انتهاء عملية نزع الكلس .	لاتمام عملية النزع.

الكفايـــة العمليـــة -٨٦-

معالجة العينة النسيجية يدويا

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا علـــى القيـــام بـــاجراءات معالجـــة الانســـجة يدويـــا وتشـــمل:

المبـــدأ:

يعتمد على معرفة الخطوات والمحاليل المستخدمة والزمن اللازم لكل خطوة .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- فورمـــالين ملحـــي او ملطـــف ١٠%
- محـــاليل كحـــول ايثلـــي بتركـــيز ٧٠% و ٩٠% و ١٠٠% (مطلـــــق).
- محلول زايليـــــن.
- محلول الشـــمع الذائـــب (برافيـــن)

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ثبـــت العينـــة باســـتخدام محلـــول الفورمـــالين الملحـــي او الملطـــف ولمـــدة ٢٤ ســـاعة ثـــم اغسلها بالمـــاء الجـــاري.	لمنـــع حـــدوث تفســـــخات او تعفنـــات او ايـــــة تغـــيرات نســـيجية، والغســـيل للتخلـــص من اثـــار الفورمـــالين.
.٢	ضـــع النســـيج فـــي كحـــول ٧٠% ثـــم ٩٠% ثم مطلق١ ثـــم مطلـــق٢ ولمـــدة ســـاعة الـــى ســـاعتين.	لتحقيـــق التجفيـــف (التخلـــص من المـــاء)
.٣	اغمـــر العينـــة فـــي محلـــول الزايليـــن لمـــدة ١٥-٣٠ دقيقـــة.	للتنقية او الـــترويق

الكفايــة العمليــة -٨٧-

اشباع (تشريب) العينات النسيجية بشمع البرافين والصب (للطمر او الادماج) في القوالب المعدنية

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بعملية اشباع العينات النسيجية بشمع البرافين والصب (الطمر او الادماج) في القوالب المعدنية لتحضير المكعبات النسيجية .

المبـدأ:

بما أن الشمع قابل للذوبان في الزايلين فإن الشمع سيحل محل الزايلين ليملأ الفراغات النسيجية ومن ثم إعطاء النسيج الصلابة اللازمة بالتبريد لتسهيل عملية التقطيع.

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـــة :

- ملقط
- شمع برافين
- قوالب معدنية
- صفيحة باردة أو ثلاجة
- كأس زجاجي
- فازلين
- صفيحة ساخنة
- غلاف بلاستيكي مثقب .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	التقط القطعة النسيجية المعالجة بوساطة ملقط وضعها في وعاء يحوي شمع برافين منصهر (درجة حرارته ٥٥-٦٠م) .	تمهيدا للشروع بعملية التشريب
.٢	ضع الوعاء بما فيه من قطع نسيجية في فرن درجة حرارته ٥٥ -٦٠م ولمدة ساعة ونصف الى ساعتين او الى ٣ ساعات ويعتمد ذلك على سمك العينة (تناسب طردي مع السمك).	لاشغال شمع البرافين الفراغات النسيجية بدلا من الزايلين .
.٣	ادهن القالب من الداخل بالفازلين .	ليسهل نزع المكعب الشمعي من القالب المعدني .
.٤	ضع القالب المعدني على صفيحة ساخنة واضف اليه قليلا من الشمع المنصهر ثم ضع القطعة النسيجية في وسط قاع القالب وبشكل منتظم .	حتى لا يتجمد الشمع بسرعة ويحدث فاصل بين الطبقة الاولى والثانية .

٥.	ضع الغلاف البلاستيكي المثقب في مكانه على القالب المعدني .	حتى يصبح جزء من المكعب الشمعي لتسهيل تثبيته على المبشرة
٦.	صب فوق القطعة النسيجية مزيدا من الشمع المنصهر من خلال الغلاف البلاستيكي المثقب .	يملأ القالب بالشمع ليسهل وضعه في جهاز المبشرة .
٧.	اذا لم يتوفر الغلاف البلاستيكي فيمكن الصب مباشرة فوق القطعة النسيجية حتى يمتلىء القالب.	بديل لوجود الغلاف البلاستيكي
٨.	ضع القالب بما فيه على صفيحة باردة ليتجمد .	حتى يسهل نزعه من القالب .
٩.	اقلب القالب على وجهه على سطح الطاولة بقوة .	لنزع المكعب الشمعي من القالب المعدني.

الكفاية العملية -٨٨-

تقطيع المكعبات النسيجية للحصول على المقاطع النسيجية

الهدف :

١-ان يكون الطالب قادرا على استخدام جهاز المبشرة والتعامل معه .
٢-ان يكون الطالب قادرا على القيام بعملية التقطيع وانتاج مقاطع جيدة.

المبدأ :

يعتمد على مدى مهارة الفني في التعامل مع أجزاء المبشرة بشكل يسر وسريع وعلى معرفته بمواصفات المقاطع الجيدة الخالية من أي عيوب مثل الالتفاف والتشقق وغيرها.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مكعبات نسيجية
- مبشرة (Microtome) من النوع الدوار Rotatory .
- ثلج
- شاش

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ثبت المكعب النسيجي في مكانه في جهاز التقطيع بشكل جيد.	تمهيدا للبدء في عملية التقطيع.
.٢	اسحب نظام دفع القالب الى الوراء بوساطة ذراعها الخاص بذلك.	حتى تكون لدينا الفرصة الكافية لاجراء التقطيع لاكبر عدد ممكن.
.٣	ثبت السكين النظيفة في مكانها بشكل جيد وبزاوية خلوص مناسبة.	للحصول على مقاطع جيدة.
.٤	حدد سمك القطاع المطلوب وعادة ما يكون ٥ مايكرون.	هناك اختلاف بين العينات في سمك القطاع المطلوب.
.٥	قرب السكين باتجاه المكعب النسيجي.	حتى نبدأ في عملية التقطيع
.٦	ابدء بالتقطيع بوساطة دوران عجل الجهاز.	
.٧	برد المكعب النسيجي بوساطة قطعة الشاش الموجودة في وعاء الثلج كلما التفت المقاطع النسيجية المقطوعة.	للتغلب على حدوث الالتفافات
.٨	خذ المقاطع الممثلة للعينة كاملة.	تمهيدا للتحميل على الشريحة الزجاجية .

الكفاية العملية -٨٩-

تحميل المقاطع النسيجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بتحميل المقاطع النسيجية على الشريحة تمهيدا لصبغها .

المبدأ :

يعتمد على قدرة الفني على نقل المقاطع إلى محلول الكحول المخفف ثم إلى الحمام المائي ووضعها على الشرائح دون حدوث تمزق لها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اعواد خشبية
- حمام مائي بدرجة ٤٠-٤٢م
- محلول كحول ايثيلي ٣٠%

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ المقاطع النسيجية المقطعة بوساطة عود خشبي الى وعاء يحوي ٣٠% كحول ايثيلي.	لكي تتفرد الانكماشات
٢.	انقل المقاطع النسيجية بوساطة شريحة عريضة من ٣٠% كحول الى حمام مائي بدرجة ٤٠-٤٢م.	للتأكد من زوال الانكماشات
٣.	اوسم الشريحة برقم او اسم المريض	لتجنب أي التباسات وسوء توزيع النتائج .
٤.	انشر مادة لاصقة على سطح الشريحة مثل (زلال البيض مع الجلسرين) .	لتجنب انزلاق القطاعات من على الشريحة.
٥.	ادخل الشريحة الموسومة الى داخل الماء في الحمام المائي بشكل عمودي على حافة القطاع النسيجي بحيث تجعل حافة القطاع النسيجي على طرف الشريحة العلوي ثم اسحب الشريحة الى اعلى .	لرفع القطاعات من الماء الى الشريحة.
٦.	صف الشريحة من الماء وانقلها الى الفرن.	للتخلص من بقايا الماء.

الكفايـــة العمليـــة -٩٠-

صبغ المقاطع النسيجية بصبغة هيماتوكسلين -أيوسين .

الـــهدف :

ان يكــون الطــالب قــادرا علــى القيــام بخطــوات صبــغ المقــاطع النســيجية علـــى الشرائح الزجاجيــــة.

المبـــدأ :

يعتمد علـــى العوامـــل الفيزيائيـــة والكيميائيـــة فـــي الصبـــغ حيـــث تظـــهر الخليـــة ملونـــة بشكل واضــــح .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمــــة :

- محلول زايليــــن.
- كحول مطلق ٩٥%، ٧٠%، ٥٠%.
- صبغـــة الهيماتوكســـلين
- كحول حــــامضي ومحلـــول الامونيـــا
- صبغـــة الايوســـين

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اخرج الشــريحة مــن الفــرن واغمرهـــا فـــي محلول الزايليـــن لمـــدة ٢-٣ دقـــائق.	للتخلص من الشـــمع
٢.	انقـــل الشـــريحة الـــى كحـــول مطلـــق١ ثـــم كحـــول مطلـــق٢ ثـــم كحـــول ٩٥% ثـــم ٧٠% ثـــم ٥٠% ولمـــدة ٣٠ ثانيـــــة الـــــى دقيقة لكل خطــــوة.	لتحقيق التمييــــه .
٣.	اغســـل الشـــريحة بالمـــاء المقطـــر بشــــكل جيــد.	لازالـــة اثـــار الكحـــول واتمـــام التمييـــه.
٤.	اغمـــر الشـــرحية فـــي صبغـــة هيماتوكســلين هـــاريس ولمـــدة ٨-١٥ دقيقـــة ثـــم اغســـل بالماء الجـــاري.	لاكســـــاب الانويـــــة اللـــــون الازرق.
٥.	اغمـــر الشـــريحة فـــي محلـــــول كحـــول حـــامضي.	لتمييزهـــا بازالـــــة الصبغـــــة الزائدة ويحكم علـــى ذلـــك مـــن خـــلال مشـــــاهدة الشـــــريحة مجـــهريا.
٦.	اغســـل الشـــريحة بالمـــــاء الجـــــاري ثـــم اغمرهـــا فـــي محلـــول الامونيـــــا ولمـــــدة ٣٠-٩٠ ثانيـــة.	لازالـــــة اثـــــار الكحـــــــول الحـــامضي وتوفـــير الوســـــط القـــاعدي .
٧.	اغســـل الشـــريحة جيـــدا ثـــم ضعـــها فـــــي	لاكســـاب الســيتوبلازم اللــــون

	صبغـة الايوسـين ولمـدة ٣٠ ثانيـة الـى ٣ دقـائق.	الـوردي.
.٨	ضـع الشـريحة فـي محلـول كحـول ٩٥% مرتين ولمـدة ١-٢ دقيقـة .	وذلـك للتخلـص مـن صبغـة الايوسين الزائـدة والمـاء.
.٩	ضـع الشـريحة فـي كحـول مطلـق١ ثـم مطلق٢ ولمـدة ١-٢ دقيقـة.	للتخلص من المـاء.
.١٠	ضـع الشـريحة فـي محلـول الزايليـن مرتين لمدة ٥ دقائق فـي كـل مـرة.	للتشـفيف وتمـهيدا لإضافـة وسـط التغطيـة الـذي يـذوب في الزايليـن.
.١١	غـط الشـريحة بالغطـاء والوسـط المناسـبين.	للحفظ مـن التغـيرات.

الكفاية العملية -٩١-

تغطية (Mounting) المقاطع النسيجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تغطية القطاعات النسيجية لحفظ المقاطع لاطول مدة زمنية .

المبدأ :

استخدام أوساط تغطية تذوب في محلول التنقية المستخدم ويتميز الوسط بمواصفات ايجابية جيدة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسائط التغطية مثل DPX ، كندا بلسم Canada Balsam .
- اغطية شرائح كبيرة الحجم .
- اعواد خشبية .
- محلول زايلين .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ضع قطرة الى ٣ قطرات من وسط التغطية على غطاء الشريحة .	الوسط المناسب لتحقيق هدف التغطية .
.٢	اقلب الشريحة المحتوية على القطاع النسيجي على وسط التغطية .	لاحداث الالتصاق
.٣	اعد وضع الشريحة الى الوضع الاول الاعتيادي .	لاعادة الترتيب
.٤	اغمر اطراف الشريحة بالزايلين .	للتخلص من بقايا وسط التغطية .
.٥	بوساطة عود خشبي رتب وضع غطاء الشريحة فوق القطاعات لكي لا تكون مائلة او غير ذلك .	لاحداث تناسق بين وضع غطاء الشريحة والشريحة .
.٦	اسمح لها بالجفاف .	لكي يثبت غطاء الشريحة فوق القطاع .

الكفاية العملية -٩٢-

حفظ وخزن الشرائح النسيجية بعد فحصها

الهدف:
أن يكون الطالب قادرا على القيام بحفظ وخزن الشرائح النسيجية ومن ثم استخراج أية شريحة بيسر وسهولة.

المبدأ:
يعتمد على طريقة التسمية والتصنيف الذي يسهل الوصول إلى أية شريحة في أي وقت.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- صينية خاصة بالشرائح.
- خزائن التخزين.
- كحول ٩٥%.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	نظف الشريحة بمحلول كحول ٩٥% بوساطة قطعة شاش ولا تستخدم محلول الزايلين لذلك.	لان الزايلين يقلل من تماسك غطاء الشريحة مع الشريحة.
٢.	تأكد من أن الشريحة موسومة باسم المريض أو رقمه وتاريخ تحضير الشريحة وطبيعة النسيج والصبغة المستعملة.	للاستفادة من هذه المعلومات حين الرجوع للشرائح لإعادة قراءتها.
٣.	ضع الشريحة في صينية خاصة سواءا بشكل أفقي أو عمودي بعد التأكد من جفافها.	لتناول الصينية كاملة لغايات الاستخراج ثم اخذ الشريحة المطلوبة من الصينية.
٤.	أوسم الخزائن من الخارج بأرقام الشرائح الموجودة في الداخل وتاريخ تحضيرها مستخدما الأشهر والسنين كأن تقول شهر ٩٩/١ , ٩٩/٢ وهكذا.	لتسهيل الوصول إلى الشريحة المطلوبة بدلا من البحث في جميع الشرائح وهذا من مبادئ الترقيم والتصنيف.

الفصل الخامس

علم الدم

Hematology

الكفايـــة العمليــــة -٩٣-

تحضير عينات الدم

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى تحضـــير عينـــــات الـــدم الكـــامل والبلازمـــا والمصـــل .

المبـــدأ :

تجمع عينة الدم الكـــامل بمـــزج الـــدم المســحوب عـــن طريـــق الوريـــد فـــي حاويـــة تحتوي علـــى مـــانع تجلـــط وتمـــزج جيـــدا كمـــا يتـــم تحضـــير البلازمـــا بتعريـــض عينـــات الـــدم الكـــامل للطـــرد المركـــزي لترســـيب الخلايـــا الدمويـــة والحصــــول على البلازمـــا طافيـــة فوقـــها فـــي حيـــن تحضـــر عينـــة المصـــل بالســـماح لعينـــة الدم الموجـــودة فـــي أنبـــوب طـــرد مركـــزي خـــال مـــن موانـــع التجلـــط بـــالتجلط وضمـــور الجلطـــة. يســـتخدم الطـــرد المركـــزي لفصـــل المصـــل عـــن الجلطـــة الدموية والخلايـــا الحمـــراء الحـــرة.

الأجـــهزة والأدوات والمـــواد اللازمـــة :

- أنابيب طـــرد مركـــزي.
- جهاز طـــرد مركـــزي .
- موانع تجلـــط .
- أعواد خشـــبية أو قضيـــب وجـــاجي .
- حاضنـــة .

أ. تحضير عينات الدم الكامل (Whole Boold) والبلازما.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع عينة الدم في انبوب طرد مركزي يحتـوي على مانع تجلـــط مناســـب (Sodium Citrate) وامزجها جيدا.	للحصول على عينة دم كاملـــة وللتعامل معها كعينة مخبرية.
٢.	عرض عينة الدم الكـــامل للطـــرد المركـــزي بسرعة مناسبة (٣٠٠٠ د/د) أو اتركها بدرجـــة ٢٠م لعدة ساعات.	لفصل الدم الى مكوناتـــه مـــن البلازمـــا (الطـــافي) والخلايـــا الحمراء (الراسب) للتعامل معها كعينة مخبرية.
٣.	أنقل البلازما الى حاوية مناسبة بواسطة قطـــارة أو ماصة أوتوماتيكية.	للتعامل معها لعينة مخبرية.

ب. تحضير عينات المصل بالطريقة التقليدية:

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع عينة الدم بعد سحبها مباشرة في أنبوب طرد مركزي خالي من أي مانع تجلط.	للسماح بانطلاق عملية التجلط بمجرد ملامستها لأي سطح خارجي.
٢.	ضع أنبوب الطرد المركزي الذي يحتوي على عينة الدم في حاوية بدرجة ٣٧ لمدة ٣٠ دقيقة وحتى إكتمال تجلط الدم وضمور الجلطة.	للسماح بخروج المصل من الجلطة.
٣.	عرض أنبوبة الطرد المركزي بعد فصل حافة الجلطة من جدار الأنبوبة بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق.	لفصل الجلطة الدموية كراسب في أسفل الأنبوب عن المصل الطافي (في أعلى الأنبوب).
٤.	أنقل المصل إلى حاوية مناسبة بواسطة قطارة أو ماصة أوتوماتيكية.	للتعامل معها كعينة مخبرية.

جـ. تحضير عينة المصل عن طريق البلازما.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	عرض عينة الدم بعد سحبها مباشرة للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣دقائق في أنبوب طرد مركزي خالي من أي مانع للتجلط.	لفصل الخلايا الدموية عن البلازما.
٢.	ضع العينة في حاضنة بدرجة ٣٧ م لمدة ٣ -٥ دقائق.	للسماح باكتمال تجلط البلازما الطافية دون الخلايا الحمراء.
٣.	أضغط شبكة الفيبرين الموجودة في البلازما تدريجياً من السطح الى أسفل باتجاه الخلايا الحمراء بواسطة قضيب زجاجي.	لطرد المصل من شبكة خبط الفيبرين.
٤.	عرض العينة مرة أخرى للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق.	لتجميع خيوط الفيبرين على شكل طبقة مكدسة بين الخلايا الحمراء والمصل الطافي.
٥.	أنقل المصل (الطافي) الى حاوية مناسبة بقطارة أو ماصة اوتوماتيكية.	للتعامل معها كعينة مخبرية.

الكفايــة العمليــة -٩٤-

استقبال العينات

الــهدف :
أن يكون الطالب قادرا على التعامل مع المراجعين ببشاشة وسعة صدر ومصداقيــة أثنــاء استلام العينات وتسليم النتائج وأن يكون قادرا على توزيع العينات علــى أقســام المختــبر المختلفة بعد التأكد من صلاحيتها للفحص المطلوب وأن يوثق عمله في سجلات الاستقبال.

المبــدأ :
إن البشاشة وسعة الصدر والمصداقية والنظام من الصفات الأساسية التــي تســاعد فنــي المختبر المسؤول عن استلام العينات على كسب ثقة المراجعين وودهم وبالتــالي تعزيــز اقبالهم على التعامل معه .

الأجــهزة والأدوات والمــواد اللازمـــة :

- غرفة الاستقبال وجمع العينات مزودة بكافة وسائل الراحة والطمأنينة وان تكون جيــدة الإنارة والتهوية
- سجلات استلام العينات وتسليم النتائج .
- أوراق مراجعة .
- قرطاسية مختلفة .
- أدوات نقل العينات .
- تعليمات مطبوعة تخــص بعــض التجــارب المخبرية .
- أقلام وسم .
- ملصقات تخص العينات.

الرقم	الخطوة	المبررات
١.	تجمــل بالبشاشـــة والمصداقيــة وســعة الصدر عند تعــاملك مــع المريــض .	لكســب ثقــة المراجعيــن تعزيـــز اقبالهم علـــى المختــبر .
٢.	تـــأكد مـــن وضـــوح الفحـــص المطلــوب بشـــكل محـــدد وعـــدم اعتماد أســـماء تجــارب غــير محـــددة مثــل (CBC) أو وظــائف الكبـــد ... الــخ .	لتجنـــب القيـــام بـــالاجراءات الخاطئـــة .
٣.	أعــط المراجــع الحاويـــة المناســـبة وزوده بالمعلومــات اللازمـــة لجمــــع العينة وحفظــها شــفهيا أو خطيــا.	لضمــان الحصــول علـــى عينـــة مستوفية لمتطلبـــات الفحــص .
٤.	الق نظرة ســـريعة علـــى العينـــة قبــل اســتلامها .	للتأكد مـــن صلاحيتــها وملائمتــها للفحص المطلـــوب.

٥.	اكتب الرقم المخبري المتسلسل على العينة ونموذج طلب الفحص وعلى ورقة المراجعة .	لضمان حصول المريض على نتيجة الفحص المطلوب لعينته وعدم حصوله على نتيجة أخرى .
٦.	اكتب اسم المريض وجنسه وعمره وطبيبه واسم الفحص المطلوب وتاريخ استلام العينة وتسليم النتيجة في سجل استقبال العينات أمام رقمه المخبري .	لتوثيق المعلومات كي يتسنى الرجوع إليها عند الحاجة .
٧.	أكتب الرقم المخبري وتاريخ استلام العينة وتسليم النتيجة في ورقة المراجعة	لتسهيل عملية المراجعة واستخراج النتيجة .

الكفاية العملية -٩٥-

جمع الدم من الاوعية الشعرية بثقب الجلد

Capillary blood collection by skin puncture

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على جمع عدة نقط من دم المريض باحداث جرح قياسي في سطح الجلد.

المبدأ :

يعهد بجمع الدم إلى فني متمرس يتميز بالبشاشة وسعة الصدر في حجرة جيدة الانارة والتهوية ومزودة بكل وسائل الراحة النفسية والبدنية وبجميع لوازم سحب الدم واجراءات التعقيم المناسبة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- طلب الفحص .
- ادوات مدببة وحادة ومعقمة بابعاد قياسية ثابتة Lancets
- قطع قطن او قماش مبللة بـ ٧٠% كحول.
- قطن مبلل بمحلول الأمونيا (للطوارئ) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تأكد من هوية المريض واطلب منه الجلوس أو الاستلقاء في وضع مريح .	لمنع استبدال المريض بمريض آخر ولتهيئته نفسياً وبدنيا .
٢.	تفحص سطح الجلد في مواقع الثقب المحتملة (اطراف الاصابع او حلمة الاذن عند البالغين او كعب القدم عند الرضع).	لاختيار الموقع المناسب الذي يتميز برقة الجلد وعدم امكانية تعرض الثقب للتلوث والأقل ايلاما.
٣.	ادعك الموقع ودلكه بقطعة قماش مبللة (غير مشبعة) بـ ٧٠% كحول .	لتعقيم الموقع وتنشيط الدورة الدموية في الموقع .
٤.	اضغط على الموقع باصابعك واثقب الجلد بدون تردد بواسطة المثقب (Lancet).	لشد سطح الجلد وتسهيل احداث الثقب الوريدي والحصول على جرح قياسي يتميز بتجميع قطرة دم قطرها ١-٢ملم فوق الثقب.

.٥	تجنب عصر الموقع وتخلص من اول قطرة دم في جميع الحالات باستثناء قياس زمن النزف.	لمنع تلوث العينة بعصير الانسجة.
.٦	أجمع نقط الدم التي تخرج من ثقب الجلد بشكل حر بالطريقة المناسبة.	لاستخدامها كعينات مخبرية.
.٧	اضغط بلطف قطعة قطن مبللة بالكحول فوق ثقب الجلد لعدة دقائق .	لوقف النزف من الثقب ومنع تلوث الجرح والتهابه.
.٨	تخلص من المثقب والقطن المستخدم في الحاوية المناسبة وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعداداً لإعادة أحداث الثقب عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايــة العمليــة -٩٦-

جمع عينات الدم من الاوردة

Intravenous Blood Collection

الــهدف :

ان يكون الطـالب قـادرا علـى احـداث اخـتراق وريـدي للحصـول علـى عينـات مخبرية من المريض او جمــع الـدم مـن المتـبرعين.

المبــدأ :

يعـهد بسـحب الـدم إلـى فنـي متمـرس يتمـيز بالبشاشـة وسـعة الصـدر فـي حجرة جيـدة الانـارة والتهويـة ومـزودة بكـل وسـائل الراحـة النفسـية والبدنيـة وجميع لوازم عمليـة سـحب الـدم واجـراءات التعقيـم المناسـبة .

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـة :

- حقن بلاستيكية مـع الابـر المناسـبة او اوعيـة مفرغـة مـع ابرهـا او اجـهزة جمع الدم مـن المتـبرعين.
- حـزام ضـاغط Turniquate
- قطع شـاش او قطـن مبلـل بـالكحول ٧٠%
- اوعية مناسـبة لحفـظ العينـات المخبريـة
- اشرطة طبيـة لاصقـة.
- قطن مبلـل بمحلـول الأمونيـا (للطـوارئ).

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تـأكد مـن هويـة المريـض او المتـبرع والتزامـه بالتعليمـات المناسـبة لعمليـة سـحب الـدم واطلـب منـه الجلـوس او الاسـتلقاء في وضع مريـح.	كـي تكـون العينـة المجموعـة مناسـبة للفحـص المطلـوب و يكون المتـبرع لائقـا للتـبرع فـي الـدم ومـهيئا نفسـيا لذلـك. ولتجنب اسـتبداله بمريـض آخـر.
٢.	تأكد من تحضير كـل مـا يلـزم مـن ظـروف وادوات ومـواد لجمـع الـدم (تحضـير الحاويـات المناسـبة، تثبيـت الابـر بمقدمـة الحقن او تثبيـت الابـرة فـي قـابض الوعـاء المفـرغ وادخـال الوعـاء داخـل المقبـض، القطـن اوالقمـاش المبلل بـالكحول).	لمنع تلف عينـة الـدم بسـبب عـدم ملائمتـها للفحـص فـي حالـة التـأخير فـي معالجتـها بالطريقـة المناسـبة وفـي الوقـت المناسـب، ولمنـع تعـرض المتـبرع او المريـض للمضاعفـات.

٣.	تفحص طبيعة الاوردة المرفقية.	لاختيار الوريد المناسب لسحب الدم.
٤.	اربط الذراع المرتكز على مسند المقعد او جانب السرير فوق المرفق بواسطة الحزام الضاغط بطريقة يسهل فيها ازالته.	لابراز وتثبيت الاوردة الدموية المتوقع جمع الدم منها.
٥.	اطلب من المريض او المتبرع ثني الذراع ومده وقبض الكف وبسطه عدة مرات.	لتنشيط الدورة الدموية وابراز الاوردة في الموقع.
٦.	نظف الجلد في موقع الاوردة بقطنة او قطعة قماش مبللة بالكحول او بمحلول اليود عند الحاجة لزراعة الدم جرثوميا.	لوقاية الثقب الوريدي من التلوث الجرثومي والالتهاب.
٧.	تأكد من خلو الحقنة من الهواء بضغط المكبس الى آخر مداه وتأكد من تثبيت الابرة في مقدمة الحقنة او قابض الوعاء المفرغ.	لتجنب دخول الهواء الى الدورة الدموية وتجنب انفصال الابرة عن الحقنة عند سحبها من الوريد بعد اكتمال جمع الدم.
٨.	انزع غطاء الابرة واثقب الوريد بالابرة بشكل موازي لاتجاه الوريد وبزاوية ٣٠-٤٥° مع سطح الجلد وبدون تردد بحيث يكون حد الابرة المدبب ملامسا للجلد.	للتأكد من دخول الابرة باتجاه موازٍ لتيارات الدم وعدم اختراق الوريد بشكل قطري.
٩.	راقب ظهور الدم في مقدمة الحقنة بعد احداث الثقب الوريدي.	لأن ظهور الدم في مقدمة الحقنة او عند قاعدة الابرة يدل على ان الابرة في موقعها الصحيح داخل الوريد.
١٠.	أ-اسحب مكبس الابرة الى الخلف او ب-اضغط الوعاء المفرغ الى داخل المقبض حتى تخترق الرأس القصير للابرة داخل المقبض غطاء الوعاء. ج-او ثبت الابرة في موقعها فوق سطح الجلد بشريط طبي لاصق عند جمع الدم من	-لاحداث الفراغ المناسب لكمية الدم المطلوب جمعها . -لتوصيل الفراغ الخاص بالاوعية المفرغة بالدورة الدموية عن طريق الابرة. -لتسهيل تدفق الدم الى الحقيبة خلال فترة جمع الدم التي قد تزيد عن عشرة دقائق.

	المتبرعين وانزع الحزام الضاغط.	
.١١	إسحب الابرة من الوريد واضغط بشكل لطيف موقع الثقب بقطعة قماش او قطن مبللة بالكحول وثبتها بشريط طبي لاصق بعد جمع كمية الدم اللازمة في الفراغ. وقم بازالة الحزام الضاغط .	لمنع النزف من الثقب الوريدي.
.١٢	انزع الابرة المثبتة بالحقنة وانقل الدم إلى الحاوية المناسبة وثبت عليها الرقم المخبري . أو ضع حقيبة جمع الدم من المتبرع على هزاز كهربائي لخلط الدم المجموع مع مانع التجلط خلال تدفق الدم واسحب الابرة من الوريد بعد امتلاء حقيبة الدم واضغط بشكل لطيف موقع الثقب بقطعة قماش او قطن مبللة بالحكول وثبتها بشريط طبي لاصق .	لتجنب تحلل الخلايا الدموية ولتمييز العينة عن بقية العينات. لمزج الدم بموانع التجلط والحافظة للدم الموجودة في حقيبة الدم ولمنع النزف من الثقب الوريدي.
.١٣	تخلص من الحقن والابر المستخدمة في جمع الدم ونظف الموقع.	تمهيدا لجمع عينات دم اخرى عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -٩٧-

تعداد الخلايا الدموية الحمراء والبيضاء والصفائح مجهرياً

Microscopic count of blood cells (RBCs, WBCs, & platlets)

الــــهدف :

ان يكــون الطــالب قــادراً علــى تعــداد أي مــن الخلايــــا الدمويـــــة (الحمــــراء والبيضاء او الصفـــائح) باســـتخدام المجـــهر وشـــرائح تعـــداد الخلايـــا الزجاجيـــة.

المبـــدأ :

يتـــم القيـــام بتعـــداد أي مـــن الخلايـــا الدمويـــة الحمـــراء والبيضــــــاء والصفــــائح الدمويـــة بعـــد بعثرتـــها عـــن طريـــق تخفيـــف عينـــة الـــدم بمحلـــــول التخفيـــــف المناســـب بالنســـبة المناســـبة باســـتخدام ماصـــات تومـــا. تســـتخدم شـــرائح تعــــداد الخلايا لتعداد الخلايــــا فـــي حجـــم ثـــابت مـــن العينـــة المخففـــة. يســـتخدم المحلـــول الملحـــي (NS) فـــي تخفيـــف عينـــة الـــدم بنســـبة ١: ٢٠٠ عنـــد الحاجـــــة لعـــد الخلايـــا الحمـــراء ومحلـــول ٣% حـــامض اســـتيك مضافـــا إليـــه صبغـــة رايـــــت لتخفيف عينـــة الـــدم بنســـبة ١ :٢٠ عنـــد الحاجـــة لعـــد الخلايـــا البيضـــاء ومحلـــول ١% اوكســــلات الأمونيــــوم لتخفيــــف عينــــــة الـــــدم بنســـــبة ١ :٢٠ أو ١:٢٠٠عند الحاجـــة لعـــد الصفـــائح الدمويـــة.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- محـــاليل التخفيـــف المناســـبة وتشـــمل محلـــول ٣% مـــن حـــــامض الخليلـــك الازرق للخلايـــا البيضـــاء، والمحلــــول الملحــــي N.S للخلايـــــا الحمــــراء و١% اكســـلات الامونيـــوم للصفـــائح.
- قطع شاش أو قطـــن مبللـــة بــــ ٧٠% كحـــول.
- ماصـــات تومـــا لتخفيـــف عينـــات الـــدم نظيفـــة وجافـــة موصولـــة بانابيبــــــها المطاطيـــة.
- شـــريحة تعـــداد الخلايـــا المحســـنة مـــن نـــوع نوبـــر مـــع اغطيتـــها نظيفـــــة وجافـــة.
- مجـــاهر مـــزودة بالعدســـــات الشـــيئية ١٠ (L.P) و ٤٠ (HP).
- حجـــرة رطبـــة عنـــد اللـــزوم (طبـــق بـــتري بداخلـــه ورقـــة ترشـــيح مبللـــــة بالمـــاء).

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امزج عينة الدم جيدا قبل الشروع في تخفيفها اذا كانت مجموعة على مانع تجلط.	لتوزيع الخلايا بشكل متجانس في العينة.
.٢	املأ القناة الشعرية لماصة توما الخاصة بتعداد الخلايا الحمراء او البيضاء حتى العلامة ٠,٥ من عينة الدم او من جرح قياسي بعد ان تثبت مبسم الانبوب المطاطي بين الاسنان وتجنب وجود فقاعات هوائية في العينة داخل الماصة.	للحصول على حجم قياسي ثابت من العينة.
.٣	نظف السطح الخارجي لمقدمة ماصة توما بمسحه بقطعة قماش مبللة بالماء.	لمنع تلوث محاليل التخفيف بعينات الدم وبالتالي لتجنب خطأ زيادة حجم العينة اثناء التخفيف.
.٤	اغمس مقدمة ماصة توما في محلول التخفيف المناسب بشكل عمودي بحيث يبقى ميسم الانبوب المطاطي مثبت بين الاسنان واملأ الماصة حتى العلامة بعد الانتفاخ بحيث يمكن رؤية حركة السوائل داخل الماصة.	للتأكد من صحة ودقة التخفيف ومنع حجز فقاعة هوائية داخل انتفاخ التخفيف.
.٥	ارفع الماصة من محلول التخفيف مباشرة بعد وصوله حتى العلامة بعد الانتفاخ (١١ في ماصات تخفيف الخلايا البيضاء او ١٠١ في ماصات تخفيف الخلايا الحمراء) وثبتها بشكل افقي.	لمنع خروج المحاليل من ماصة توما بعد وصول محلول التخفيف حتى العلامة بعد الانتفاخ ولضمان دقة التخفيف بنسبة ١:٢٠ في ماصات الخلايا البيضاء وبنسبة ١:٢٠٠ في ماصات تخفيف الخلايا الحمراء.
.٦	افصل الانبوب المطاطي عن ماصة توما وامزج عينة الدم مع محلول التخفيف داخل الانتفاخ بمساعدة البلورة الزجاجية البيضاء او	لبعثرة الخلايا وتوزيعها بشكل متجانس بالنسبة للخلايا الدموية بشكل عام والصفائح الدموية بشكل

	الحمراء عن طريق خضها باليد او بخضاض كهربائي لمدة خمسة دقائق في حالة تعداد الخلايا الحمراء والبيضاء ولمدة ١٥ دقيقة في حالة تعداد الصفائح الدموية.	خاص التي تتميز بقدرتها على التكتل والالتصاق.
.٧	تخلص من اول قطرتين تخرج من مقدمة الماصة.	لانها تمثل محلول التخفيف الذي يملا القناة الشعرية ولا يساهم في نسبة التخفيف وشبه خالي من الخلايا.
.٨	ثبت غطاء شريحة تعداد الخلايا فوق المربعات المخططة في سطحها واملأ الفراغ المحجوز بينها بمحلول العينة المخففة الخالي من اية فقاعة هوائية وتجنب تدفق المحلول فوق غطاء الشريحة او في الاخاديد المحيطة بالمربعات.	لتحديد حجم ثابت (٠,٤)ملم٣ يشار له بـ (4W) او ٠,٠٢ ملم٣ يشار له بـ 5R تمهيدا لتعداد الخلايا فيه.
.٩	استعرض الخلايا الحمراء او البيضاء فوق مربعات شريحة نوبر بالعدسة الشيئية ١٠ واستعرض الصفائح الدموية فوق مربعات شريحة نوبر بالعدسة الشيئية ٤٠ بعد فترة زمنية مناسبة.	للتأكد من استقرار الخلايا وتوزيعها بشكل متجانس على سطح المربعات وللتأكد من نظافة الشريحة ومحلول التخفيف المستخدم (تستقر الخلايا الحمراء والبيضاء خلال عدة دقائق وتحتاج الصفائح لما لا يقل عن ١٥ دقيقة لاستقرارها).
.١٠	احفظ شريحة نوبر بعد ملئها في الحجرة الرطبة اذا تأخر تعداد الخلايا عن خمسة دقائق لأي سبب كان.	لمنع جفاف العينة المخففة ومنع تقلص حجمها وبالتالي تكدس موضعي للخلايا فوق مربعات التعداد .
.١١	قم بتعداد الخلايا الحمراء فوق المربعات المشار لها بـ 5R والخلايا البيضاء وفوق المربعات المشار لها بـ 4W والصفائح الدموية فوق أي منهما حسب ماصة توما المستعملة باستخدام العدسات الشيئية ١٠ للخلايا البيضاء والعدسة ٤٠ للخلايا	لأن عدد الخلايا الحمراء والصفائح كبير بشكل محسوس بالنسبة للخلايا البيضاء التي تحتاج الى حقل مجهري واسع (4W) لعدها.

	الحمراء والصفائح.	
١٢.	استخدم الضوء الخافت للحصول على حقول مجهرية صغيرة بواسطة العدسة الشيئية ٤٠ عند الحاجة لعد الصفائح.	لعدم امكانية رؤية الصفائح الدموية بشكل واضح بالعدسة الشيئية ٤٠ وانما يستدل على مواقعها ببريقها الكروي او البيضاوي في الحقول المعتمة.
١٣.	اعتمد مبدأ الزوايا المتقابلة للمربعات عند تعداد الخلايا فيها.	وذلك لمنع تكرار تعداد الخلايا الموجودة على الخطوط الفاصلة بين المربعات اذ تعد الخلايا على خطوط الزاوية المختارة لمربع ما مع المربع والخلايا الواقعة على خطوط الزاوية المقابلة مع المربعات المجاورة.
١٤.	اضرب مجموع عدد الخلايا الحمراء فوق المربعات 5R بـ ١٠٠٠٠ ومجموع عدد الخلايا البيضاء فوق المربعات 4W بـ ٥٠.	لحساب عدد الخلايا الحمراء والبيضاء في كل ملم³ واحد من عينة الدم غير المخففة . يحسب عدد الصفائح بناءا على الطريقة المتبعة في تخفيفها او عدها (حمراء او بيضاء).
١٥.	تخلص من العينة المخففة ونظف وجفف ماصات توما وشرائح نوبر واغطيتها والموقع واعد المحاليل الى مواقع حفظها بعد اعتماد النتيجة (يستعان بالكحول للتخلص من الماء من داخل ماصات توما) .	تمهيدا لاعادة تعداد الخلايا في عينات اخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة .

الكفايـــة العمليـــة -٩٨-

تحضير ودراسة شريحة دم مصبوغة

الـــهدف :

ان يكـون الطـالب قـادرا علـى تحضـير شـريحة دم مصبوغـة تناسـب دراسـة الخلايا الدموية الحمـراء والبيضـاء والصفـائح مـن ناحيـة اشـكالها ونسـبها.

المبـدأ :

يتم دراسة أشـكال الخلايـا الدمويـة ونسـبها فـي شـرائح الـدم المصبوغـة بـأي مـن صبغـات رومانوسـكي للمسـاعدة فـي تشـخيص أمـراض الخلايـا الدمويـة وتجلط الـدم ومتابعـة علاجـها .

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـــة :

- شرائح زجاجيـة نظيفـة وجافـة .
- احـدى صبغـات رومانوسـكي مثـل صبغـة رايـت Wright او ليشـمان Leishman او جيمـزا Giemza.
- ماء مقطـر او محلـول منظـم.
- مجـهر يوفـر العدسـات الشـيئية ١٠ (L,P) و ٤٠ (HP) والزيتيـة ١٠٠.
- كحـول الميثـانول Methanol عنـد اسـتخدام صبغـة جيمـزا.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع قطـرة دم قطرهـا ٢-٣ملـم علـى سـافة ١ سـم مـن الحافـة القصـيرة لشريحة زجاجيـة افقيـة.	لاسـتخدام مـا تبقـى مـن سـطح الشـريحة الافقيـة لفرش قطرة الـدم عليـه.
٢.	ضع الحافة الضيقة لشريحة زجاجية اخـرى بملامسة سطح الشريحة الافقية لتكوين زاوية حادة تحتوي قطرة الدم داخلـها (٣٠-٤٥) وحركها باتجاه قطرة الدم حتى تلامسها.	لتوزيـع الـدم علـى رأس الزاوية الحـادة.
٣.	حـرك الشـريحة الثانيـة باتجـاه الحافـة الضيقـة الاخـرى للشـريحة الافقيـة بسـرعة وزاويـة ثابتـة وبـدون توقـف حتى ١ سم قبـل الحافـة.	لتكويـن طبقـة دقيقـة متجانسـة مـن خلايـا الـدم تغطـي اكـثر مـن نصـف سـطح الشـريحة الافقيـة. يتناسـب سـمك الطبقـة طرديا مـع الزاويـة وعكسـيا مع السـرعة.
٤.	عـرض طبقـة الـدم المتكونـة لتيـار هوائـي عـن طريـق تحريكـها بـاليد او	للمسـاعدة علـى تجفيفـها بشـكل سـريع وبالتـالي

	باستخدام مروحة مباشرة بعد تحضيرها.	المساعدة على تسطح الخلايا الدموية وابراز نواتها.
٥.	احفر اسم او رقم المريض بأداة حادة مدببة (حافة شريحة اخرى، رأس لانسيت او ابرة) في الجزء السميك من طبقة الدم.	لتمييز شريحة الدم عن بقية الشرائح دون الحاجة الى استخدام الاحبار التي قد تتدخل في عملية الصبغ.
٦.	ضع الشريحة في حوض الصبغ بوضع افقي واغمر طبقة الدم بالميثانول عند استخدام صبغة جيمزا فقط.	لتثبيت طبقة الدم على سطح الشريحة الزجاجية اثناء عملية صبغها. لا تحتاج صبغات رايت وليشمان لتثبيت طبقة الدم بالميثانول لانه يعمل كمذيب لهما عند تحضيرها.
٧.	اغمر طبقة الدم فوق سطح الشريحة وهي في وضع افقي لمدة دقيقة الى دقيقتين عند استخدام صبغات ليشمان او رايت ولمدة ٥-٧ دقائق عند استخدام صبغة جيمزا .	لاتاحة الفرصة للخلايا الدموية ومكوناتها اكتساب الصبغة بشكل يمكن التفريق بين السيتوبلازم والنواة بشكل سريع.
٨.	خفف الصبغة على سطح الشريحة بما يزيد قليلا عن حجمها بالماء المقطر او المحلول المنظم وانتظر بعد خلط الماء بالصبغة لمدة دقيقة الى دقيقتين عند استخدام صبغة ليشمان او رايت ولمدة ١٠-١٥ دقيقة عند استخدام صبغة جيمزا.	لاذابة الرواسب من الصبغة وتسهيل غسل الفائض منها من على سطح طبقة الدم بعد استكمال عملية الصبغ.
٩.	اغسل طبقة الدم والشرائح الزجاجية التي تحملها بالماء المقطر اوالمحلول المنظم واتركها بشكل مائل في الهواء.	للتخلص من فائض الصبغة المستخدمة والمساعدة على تجفيفها.
١٠.	تأكد من لون وطبيعة طبقة الدم بالعين المجردة.	لاعادة تحضير طبقات الدم غير جيدة التحضير ، تظهر طبقات الدم جيدة التحضير للعين المجردة بنفسجية متجانسة السمك.
١١.	استعرض طبقة الدم المصبوغة بالعدسة الشيئية ١٠.	للتأكد من صلاحية طبقة الدم المصبوغة من ناحية

		اكتمال الصبغ وتوزيع الخلايا بشكل متجانس ومتتابع ولاختيار انسب جزء منها للدراسة .
١٢.	استخدم العدسة الزيتية (١٠٠) لاستعراض ١٠٠ خلية بيضاء في العدد اللازم من الحقول المجهرية المتتابعة وباتجاهات متعاكسة.	للتعرف على انواع الخلايا البيضاء ونسبها المئوية باستخدام عددات رقمية خاصة او المربع المئوي ، وعلى خصائص الخلايا الحمراء والصفائح الدموية وامكانية وجود طفيليات دموية.
١٣.	استخدم النسبة المئوية لكل نوع من الخلايا البيضاء والعدد الكلي للخلايا البيضاء WBC في حساب عددها المطلق (عدد أي نوع من الخلايا البيضاء في كل ملم٣).	لأن العدد التفريقي النسبي للخلايا البيضاء لا يعبر بشكل مؤكد عن الخلل الحقيقي في مدى توفر انواع الخلايا البيضاء.
١٤.	استبعد عدد خلايا النورموبلاست التي تصادفها اثناء استعراض ١٠٠ خلية بيضاء من العدد الكلي غير الحقيقي للخلايا البيضاء باستخدام المعادلة التالية: True WBCs = $\frac{\text{Counted WBCs X100}}{\text{100+No. of Normoblast}}$	للتعرف على العدد الكلي الحقيقي للخلايا البيضاء وبالتالي العدد المطلق لكل نوع من انواعها.
١٥.	نظف عدسات المجهر بعد فصل التيار الكهربائي واعد الصبغات والادوات الى اماكن حفظها ونظف مكان العمل وتخلص من الشرائح بعد اعتماد النتيجة او احتفظ بها عند الحاجة .	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات دم اخرى وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفايــة العمليــة -٩٩-

قياس تركيز الهيموجلوبين في الدم

(Blood Hemoglobin Concentration)

الـــهدف :

ان يكـون الطـالب قـادرا علـى اسـتخدام محلـول درابكيـن فـي قيـاس تركـيز الهيموجلوبين في عينـات الـدم المختلفـة.

المبـدأ :

يعمل فيريسيانيد البوتاسيوم الذي يتفاعل مع سيانيد البوتاسيوم لتكويـن سـيانوميثموجلوبين على أكسدة الهيمجلوبين (Fe^{2+}) إلى ميثموجلوبين (Fe^{3+}) وبتناسب طـردي مـع تركـيز الهيموجلوبين في العينة.

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـة :

- محلـول درابكيـن Drabkin solution
- انابيب اختبـار نظيفـة وجافـة.
- جهاز تحليل طيفـي يوفـر الموجـة الضوئيـة ٥٤٠ مميـك.
- ماصـات الـهيموجلوبين او ماصـات اوتوماتيكيـة سـعة ٢٠ ميكـل.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينـة الـدم المجموعـة علـى مانع تجلط بشـكل جيـد.	للتـأكد مـن توزيـع الخلايـا الحمراء بشـكل متجـانس وعـدم ترسيبها بشـكل جزئـي.
٢.	امـزج ٢٠ ميكـل (٠,٠٢ ملـل) مـن العينة بـ ٥ ملـل محلـول درابكيـن في انبـوب اختبـار واتركـها بدرجـة حرارة الغرفـة لمـدة ١٠ دقـائق.	لتحريـر الـهيموجلوبين مـن الخلايـا الحمـراء وتحويلـه الـى سـيانوميثيموجلوبين (Cyanomethemoglobin).
٣.	قـم بقيـاس الكثافـة الضوئيـة لمحلـول السـيانوميثيموجلوبين المتكـون علـى الموجـة الضوئيـة ٥٤٠ مميـك بعـد ضبـط صفـر الامتصاصيـة علـى محلـول درابكيـن.	لاستخدام الكثافـة الضوئيـة فـي حسـاب تركـيز الـهيموجلوبين بمقارنتـها بجـداول قياسـية او بضربها بمعـامل ثـابت.
٤.	افصل التيار الكهربائي ونظـف الادوات الزجاجية وموقع العمل واعـد المـواد والادوات الى اماكن حفظها وتخلص من العينة بعد اعتماد النتيجة.	تمهيدا لقياس تركيز الـهيموجلوبين لمجموعـة اخـرى مـن العينـات وللمحافظة علـى نظافـة المكـان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٠٠-

قياس النسبة المئوية لهيموجلوبين الولادة

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على قياس النسبة المئوية لهيموجلوبين الولادة (HbF).

المبدأ :

لا يتفاعل هيموجلوبين الولادة مع المحاليل القلوية الى ترسب بقية الهيموجلوبينات .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- محلول هيدروكسيد الصوديوم N/12 .
- أنابيب اختبار .
- جهاز تحليل طيفي.
- ماء مقطر .
- ٥٠% محلول كبريتات الأمونيوم .
- جهاز طرد مركزي .
- ٤ ملل/ لتر محلول أمونيا .
- كلوروفورم.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	إغسل الخلايا الحمراء للمريض ثلاث مرات بالمحلول الملحي	للتخلص من البلازما ومكوناتها.
.٢	كدس الخلايا الحمراء أسفل انبوب الطرد المركزي وافصل الطافي .	للحصول على حجم معلوم من الخلايا الحمراء المكدسة .
.٣	أضف إلى حجم الخلايا الحمراء حجم ونصف من الماء المقطر وحجم آخر من الكلوروفورم وأمزج محتويات الأنبوب جيدا.	للحصول على محلول الهيموجلوبين بعد تحلل الخلايا الحمراء .
.٤	عرض للطرد المركزي لمدة ٥ دقائق بسرعة ٣٠٠٠ د/د.	لفصل محلول الهيموجلوبين من عن الكلوروفورم وبقايا الخلايا الحمراء المكدسة .
.٥	قم بقياس تركيز محلول الهيموجلوبين بطريقة درابكين وعدل تركيزه بالماء المقطر إلى ١٠غم/دل .	للحصول على محلول خلايا هيموجلوبين .
.٦	أضف الى ٠,١ ملل من محلول الهيموجلوبين القياسي ١,٦ ملل محلول N/12 هيدروكسيد الصوديوم وميزا الأنبوب بالحرف T بعد خلط محتوياته جيدا.	للحصول على محلول هيموجلوبين قلوي.
.٧	أضف ٣,٤ ملل من محلول ٥% كبريتات الأمونيوم وامزج محتويات الأنبوب جيدا لمدة دقيقة.	لترسيب الهيموجلوبين التي تتفاعل مع الوسط القلوي.
.٨	عرض الأنبوب للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ٣ دقائق.	لفصل الهيموجلوبنات المترسبة عن محلول Hb.F الطافي.

.٩	أضف الى ٠,١ ملل من محلول الــــهيموجلوبين القياسي ٥ ملل من محلول ٤ملل/لــــتر أمونيـــا وميز الأنبوب بالحرف S بعد مزج محتوياته.	لتحضير محلول قياســــي مـــن الهيماتين القلوي يمثل ١٠٠%
.١٠	قم بقياس امتصاصية المحلــــول القياســـي (S) ومحلول العينة (T) علـــى الموجـــة الضوئيـــة الامتصاصية على محلول الأمونيا.	لاستخدام المعادلة التالية في حساب النسبة المئوية لهيموجلوبين الولادة Hb.F= امتصاية T العينة ×١٠٠ / أمتصاية S المحلول القياسي
.١١	نظف الأدوات ومكان العمـــــل وأعـــد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها بعـــد فصـــل التيـــار الكهربائي عن جهاز التحليل الطبقي.	إستعدادا لإعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٠١-

الكشف عن الهيموجلوبينات غير الطبيعية بالترحيل الكهربائي وقياس تركيزها

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف عن وجود هيموجلوبينات غير طبيعية وقياس تركيزها.

المبدأ :

يعرض محلول هيموجلوبين العينة ومحلول خليط الهيموجلوبينات المعروفة للترحيل الكهربائي في وسط قلوي باستخدام اسيتات السيليوز كوسط ناقل وفي حالة ظهور نتائج غير طبيعية يعرض محلول الهيموجلوبين ومحلول خليط الهيموجلوبينات المعروفة للترحيل الكهربائي في وسط حامضي باستخدام هلام الآجار كوسط ناقل. تحمل الهيموجلوبينات في وسطها القاعدي (pH8,6) شحنات سالبة وتتجه أثناء الترحيل نحو القطب الموجب (Anode). تتحرك الهيموجلوبينات A2, C.D, F,S نحو القطب الموجب بسرعة أعلى من سرعة A وتسمى الهيموجلوبينات السريعة، يعمل التفاعل بين الهيموجلوبين والآجار ومنظم السترات الحامضي على فصل الهيموجلوبينات التي تتحرك بسرعة واحدة في وسط اسيتات السيليوز القاعدي مثل O,E,C,G,D,S .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- نظام متكامل للترحيل الكهربائي اسيتات السيليوز.
- نظام متكامل للترحيل الكهربائي بهلام الآجار .
- محلول منظم الباربيتال (pH8.6)
- ماسح ضوئي Scannar .
- شرائح أسيتات السيلوز مشبعة .
- ماء مقطر .
- محلول منظم السترات (pH6)
- شرائح هلام الاجار .
- محلول هيموجلوبين العينة (Hemolysin) يحضر بالخطوات ١-٥ من كفاية هيموجلوبين الولادة .
- محاليل هيموجلوبينات طبيعية وغير طبيعية متوقع التعرف عليها (O,E,G,S,D,C,F,A,A2) ...الخ .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج حجم من محلول هيموجلوبين العينة مع خمسة أحجام ماء فقط	لتخفيف محلول الهيموجلوبين وبالتالي انقاص امتصاصيته للضوء بعد صبغ مواقعه في الوسط الناقل .
٢.	عرض محلول هيموجلوبين العينة المخفف ومحلول خليط الهيموجلوبينات المعروفة	للتعرف على امكانية وجود هيموجلوبينات غير طبيعية بمقارنة مواقع انتشار

	للترحيل الكهربائي بواسطة اسيتات السيلوز في وسط قلوي (pH.8.6).	هيموجلوبينات العينة بمواقع انتشار هيموجلوبينات الخليط المرجعي .
.٣	عرض محلول هيموجلوبين العينة المخففة والمحلول المرجعي للهيموجلوبينات للترحيل الكهربائي بواسطة هلام الأجار في وسط حامض pH.6.	لفصل الهيموجلوبينات التي تحركت بسرعة واحدة في الترحيل الكهربائي القلوي (اسيتات السيليوز) عن بعضها والتعرف عليها بالمقارنة مع مواقع انتشار هيموجلوبينات الخليط المرجعي .
.٤	قارن بين محصلة فصل الهيموجلوبينات بواسطة اسيتات السيليلوز مع محصلة فصلها بواسطة هلام الآجار .	للتعرف بشكل قاطع على طبيعة الهيموجلوبين غير الطبيعي .
.٥	استخدم الماسح الضوئي لقياس امتصاصية مواقع هيموجلوبينات العينة .	لحساب النسبة المئوية لأي نوع من الهيموجلوبينات التي تم فصلها إلى مجموع الهيموجلون باستخدام المعادلة التالية : النسبة المئوية لأي هيموجلوبين= امتصاصية الهيموجلوبين للضوء ×١٠٠ مجموع امتصاصية الهيموجلوبينات
.٦	نظف موقع العمل والادوات وتخلص من العينات وأعد الأدوات والمواد والأجهزة إلى مواقع حفظها .	تمهيدا لاعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٠٢-

الكشف عن مشتقات الهيموجلوبين

الــــهدف :

أن يكــون الطــالب قــادرا علــى الكشــف عــن مشــتقات الــهيموجلوبين الســـــامة مثــــــــل HbO_2 و HbCO و Meth.Hb و Hb.S.

المبـــدأ :

يتــم التعــرف علــى مشــتقات الــهيموجلوبين عــن طريــــق تميـــيز الموجــــات الضوئية التي تكــون امتصاصيـــة المحـــاليل للضـــوء عليـــها عاليـــة.

الأجـــهزة والأدوات والمــــواد اللازمـــــة :

- ماء مقطـــــر.
- قطارة
- جهاز تحليـــل طيقـــي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أضف ٠,١ملل من الدم إلى ١٩,٩ ملل مــــاء مقطر وامزج جيدا.	للحصـــول علــــى محلـــول هيموجلوبين الدم مخفف بنســـبة ١:٢٠٠.
٢.	قم بقياس امصتاصية المحلول للضوء علــــى الموجات الضوئية ٤٥٠-٦٥٠ ميمك كـل ٥٠ مميك مرة.	للتعــرف علــى أي الموجـــات الضوئية تمثل قمة امتصاصيــــة المحلول للضوء .
٣.	مثل العلاقة بين طــــول الموجـــة الصوتيـــة وامتصاصية المحلول للضوء بخط بياني تكون طـــول الموجـــات علـــى المحـــور الســـيني وامتصاصية المحلول للضوء علـــى المحـــور الصادي.	للتعرف علـــى نـــوع مشـــتقات الهيموجلوبين عن طرق شــــكل الخط البياني .
٤.	قم بانزال اسقاطات قمم الخط البيـــاني علـــى المحور السيني .	للتعرف على الموجات الضوئيـــة التي تقابل أعلـــى امتصاصيـــة للضوء في المحلول، حيث تكون كما يلي : أ. ٥٣٥ و ٥٧٠ = HbCO . ب. ٥٠٠ و ٥٤٠ و٥٧٨ و٦٣٤= Meth. Hb . جـ. ٥٤٤ و ٥٧٦ = Hb. O2. د. ٥٤٨ و٥٨٠ و٦٤٠=Hbs
٥.	نظف الأدوات الزجاجية المستخدمة ومكــــان العمل وافصل التيـــار عـــن جـــهاز التحليـــل الطيفي.	تمهيدا لاعادة التجربة وللمحافظة على نظافـــة الموقـــع وســـلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٠٣-

قياس مكداس الدم

Packed cells volume (PCV) or Hematocrit

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس النسبة المئوية لحجم الخلايا الحمراء مكدسة الى الحجم الكلي للدم.

المبدأ :

تقاس النسبة المئوية لطول عمود الخلايا في الأنابيب الشعرية إلى طول عمود الدم كاملا (خلايا حمراء + قرص الخلايا البيضاء وصفائح + عمود البلازما) بعد تكديس الخلايا بالطرد المركزي للتعبير عن النسبة المئوية لحجم الخلايا الحمراء المكدسة إلى الحجم الكلي للدم (PCV) .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- انابيب شعرية هيبارينية
- صلصال او موقد بنسون
- جهاز طرد مركزي خاص بالانابيب الشعرية(Hematofuge) مسطرة قياس مكداس الدم.
- مسطرة

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة الدم المجموعة على مانع تجلط بشكل جيد.	للتأكد من توزيع الخلايا الحمراء في العينة بشكل متجانس ومنع ترسيبها الجزئي.
٢.	املأ ثلاثة ارباع انبوبة شعريه هيبارينية بالدم.	كي يكون عمود الدم داخلها مناسبا لابعاد مسطرة القياس.
٣.	اقفل فتحة الانبوبة الشعرية من الجهة التي لم تلامس العينة بالصلصال او بواسطة لهب بنسون بشكل محكم.	لمنع خروج عينة الدم اثناء تعرضها للطرد المركزي.
٤.	قم بلف الانبوبة الشعرية اثناء اقفالها بواسطة اللهب.	للحفاظ على نهايتها مستقيمة ومنتظمة بعد اكتمال قفلها.
٥.	تأكد من عدم تحرك عمود الدم داخل الانبوبة الشعرية وهي في وضع مائل او عمودي	للتأكد من اكتمال قفل نهايتها.

.٦	ضع الانبوبة الشعرية بشكل متزن مع بقية العينات في قرص جهاز الطرد المركزي بحيث تكون نهاياتها المفتوحة قريبة من محور الدوران ومثبتة في مواقعها بغطاء القرص بعد معرفة رقم موقعها.	للمحافظة على عينة الدم داخلها ومنع تحطمها اثناء الطرد المركزي ولتحديد هويتها.
.٧	عرض الدم في الانابيب الشعرية لقوة طرد مركزي تعادل ١٠٠٠٠د/د لمدة خمسة دقائق او ١٥٠٠٠د/د لمدة ثلاثة دقائق.	للعمل على تكديس الخلايا الحمراء في الجهة المقفلة من الانبوبة الشعرية بعيدا عن البلازما.
.٨	قم بقياس مكداس الدم للانبوبة الشعرية بعد توقف الطرد المركزي وازالة غطاء القرص بتحريك الانبوبة الشعرية بين الضلعين المتوازيين للمسطرة حتى تطابق نهاية عمود الدم من جهة البلازما خط المئة ونهاية عمود الدم من جهة الخلايا الحمراء على خط الصفر.	لتقسيم طول عمود الدم بخطوط المسطرة الى مائة جزء متساوي
.٩	اقرأ رقم خط المسطرة المار في موقع التماس بين عمود الخلايا الحمراء وقرص الخلايا البيضاء والبلازما.	وذلك لمعرفة النسبة المئوية لطول عمود الخلايا الحمراء الى الطول الكلي للدم والتي تمثل مكداس الدم.
.١٠	تخلص من الانابيب الشعرية وعينة الدم بعد اعتماد النتيجة ونظف المكان واطفيء اللهب واعد الادوات الى مواقع حفظها.	تمهيدا لقياس مكداس الدم لمجموعة اخرى من العينات وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٠٤-

قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء Erythrocytes Sedementation Rate (ESR) بطريقة وسترجرين (Westergreen)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام ماصات وسترجرين (Westergreen) في قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء.

المبدأ :

تعرف سرعة ترسيب الخلايا الحمراء بطريقة ويسترجرين بأنها عدد المليمترات التي يبتعدها سطح الخلايا الحمراء عن سطح البلازما في عينة الدم المخففة خلال ساعة من الزمن تحت تأثير الجاذبية الأرضية وتتناسب طرديا مع امكانية تكوين التكتل الكاذب (Rolaux) . تعتمد امكانية تكوين التكتل الكاذب على عدد من العوامل اهمها تركيز الفيبرينوجين والجاما جلوبيولين وبتناسب طردي ومكداس الخلايا الحمراء ومدى تكورها بتناسب عكسي .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ماصات وسترجرين Westergreen نظيفة وجافة.
- محلول ملحي (N.S) او ٣,٨% سترات الصوديوم.
- انابيب مصلية.
- حامل ماصات ويسترجرين.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خفف عينة الدم المسحوبة من الوريد مباشرة بنسبة (٤+١) بمحلول ٣,٨سترات الصوديوم والعينة المجموعة على EDTA بنسبة (٤+١) بالمحلول الملحي عن طريق مزج عبوة ماصة ويسترجرين من الدم مع ربع سعتها من محلول التخفيف في انبوبة مصلية.	للمساعدة في فصل الخلايا الحمراء المترسبة عن البلازما بمستوى سطحي حاد.
٢.	اعد تعبئة ماصة ويسترجرين بعينة الدم المخففة حتى العلامة صفر بدون اية فقاعات هوائية وثبتها في حامل ماصات ويسترجرين بشكل عمودي.	لتعريض كتلة الخلايا الحمراء في عينة الدم المخففة لتأثير الجاذبية الارضية.
٣.	اترك ماصة ويسترجرين مثبتة بشكل عمودي فى حاملها لمدة ساعة او ساعتين.	لاعطاء الفرصة لتكوين الروليكس وتكدس الخلايا الحمراء تحت تأثير الجاذبية الارضية خلال ساعة او ساعتين.

٤.	اقرأ المسافة بالملم التي ابتعدها سطح الخلايا الحمراء المكدسة عن سطح البلازما.	لمعرفة سرعة ترسيب الخلايا الحمراء بالملم/ ساعة.
٥.	افرغ ماصة ويسترجرين من محتوياتها من عينة الدم واغسلها جيدا ونظف الادوات واعدها الى مكانها ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاجراء التجربة على مجموعة اخرى من العينات وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفايــة العمليـــة -١٠٥-

قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء باستخدام الأنابيب الشعرية

Zeta Sedementation Rate (ZSR)

الــهدف :

أن يكـون الطــالب قــادرا علــى قيــاس ســرعة ترســيب الخلايــا الحمـــراء بواسطة الأنـــابيب الشــعرية .

الأجــهزة والأدوات والمــواد اللازمـــة :

- جــهاز طـــرد مـــركزي (زيتـــافيوج = Zetafuga).
- لـــهب أو صلصـــال.
- مسـطرة قيـاس مكـداس الـــدم.
- جــهاز طــرد مركـزي لقيــاس مكـداس الـــدم.
- أنـــابيب شـــعرية .

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امزج عينة الـــدم المجموعة على مـــــانع تجلط بشكل جيد .	للتأكد من توزيع الخلايا الحمراء في العينة بشكل ممتاز .
.٢	املأ ثلاثة أرباع انبوبين شــعريين بعينـــة الدم.	كي يكون عمود الدم داخلها مناســبا لأبعاد مسطرة القياس .
.٣	اقفل فتحة الأنابيب الشعرية من الجهة التي لم تلامس العينـــة بالصلصـــال أو لـــهب بنسون بشكل محكم .	لمنع خروج عينة الدم أثناء تعرضها للطرد المركزي .
.٤	قم بلف الأنابيب الشـــعرية أثنـــاء قفلـــها باللهب.	للحفاظ علــــى نهاياتــها مســتقيمة ومنتظمة بعد اكتمال قفلها.
.٥	تأكد من عدم تحرك عمود الـــدم داخــل الأنابيب الشعرية وهي في موضع مائل أو عمودي.	للتأكد من اكتمال قفلها.
.٦	عرض الدم في احدى الانبوبتين للطـــرد المركزي بسرعة ١٠٠٠٠د/د لمدة ثــلاث دقائق.	للعمل على تكديس الخلايا الحمـــراء في الجهة المقفولـــة مـــن الانبوبـــة الشعرية وقياس الهيماتوكريت.
.٧	عرض الدم في الانبوبة الأخرى وهي فـي وضع عمودي لأربـــع دورات Zetafuge بحيث تستغرق الدورة ٤٥ ثانية.	لتكوين التكتـــل الكــاذب للخلايــا الحمراء وترسيبها بواسطة جــــهاز زيتافيوج في مدة ثلاث دقائق .
.٨	استخدم مسطرة قياس مكداس في قيـــاس مكداس الدم من الانبوبة الأولـى و zetocrit من الانبوبة الثانية.	لاستخدامها في حســاب ZSR عـــن طريق المعادلة التالية : $\frac{\text{Hematocrit}}{\text{Zetocrit}}$ ZSR × 100

.٩	ضمن تقريرك للطبيب القيم الطبيعية ZSR ٤١-٥٤% للبالغين.	لمساعدته في تنشيط الحالات المرضية في حالة وجودها.
.١٠	نظف الأدوات والمواد ومواقع العمل بعد أن تعيد المواد والأدوات إلى مواقعها.	تمهيداً لاعادة التجربة وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٠٦-

قياس النسبة المئوية للخلايا الشبكية

Reticulocyte percentage (Rt %)

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـــادرا علـــى قيـــاس النســـبة المئويـــة للخلايـــا الشـــبكية (Rt%).

المبـــدأ :

تعمـــل صبغــــات Brilliant Cresyl Blue أو New Methylene Blue علـــى معادلـــة جزيئـــات RNA المتبقيـــة فـــي الخليـــة الشـــبكية (الخليـــة الحمـــراء التـــي تحتـــوي علـــى ســـيتوبلازم بـــدون نـــواة) وتربطـــها مـــع مـــا تبقـــى مـــن الميتاكوندريـــا وجســـيمات الفـــيرتين علـــى شـــكل سلاســـل مـــن الخيـــوط المتشـــابكة ذات اللـــون الأزرق. تعـــبر نســـبة الخلايـــا الشـــبكية مـــن خـــلال مؤشـــرها (RI) عن سرعة تكويـــن الخلايـــا الحمـــراء .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- انبوبة زجاجية ١٠×١١٠ ملم
- صبغة New Methylene Blue (NMB) او Brilliant Cresyl Blue (BCB)
- حمام مائي بدرجة ٣٧م.
- شرائح زجاجية نظيفة وجافة.
- مجهر بعدسة عينية مخططة وعدسات شيئية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امـــزج قطرتيـــن مـــن عينـــة دم مـــع قطرتيـــن مـــن أي مـــن صبغـــات NMB او BCB فـــي انبـــوب زجـــاجي ١٠×١١٠ ملـــم وضعـــها فـــي حمام مـــائي بدرجـــة ٣٧م لمـــدة ربع ســـاعة.	لاتاحـــة الفرصـــة لتفـــاعل جزيئـــات RNA الموجـــودة فـــي الخلايـــا الشـــبكية مـــع الصبغـــة المســـتخدمة واكتســـابها اللـــون الازرق.
.٢	جـــهز طبقـــة متجانســـة مـــن الخليـــط علـــى ســـطح شـــريحة زجاجيـــة نظيفـــة وجافـــة وعرضـــها لتيـــار هوائـــي لتجفيفـــها .	تمـــهيدا لفحصـــها مجـــهريا للتعـــرف علـــى الخلايا الشـــبكية وعددهـــا.

٣.	استعرض طبقة الدم المصبوغة بالعدسة الشيئية١٠.	للتأكد من تجانس توزيع الخلايا واكتمال عملية الصبغ.
٤.	قم بايجاد عدد الخلايا الشبكية فيما لا يقل عن الف خلية حمراء موزعة على عشرة حقول مجهرية متتابعة على العدسة الزيتية وذلك باستخدام معدل عدد الخلايا الحمراء على القطر الوهمي للحقول المجهرية كمؤشر على عددها في الحقل المجهري الواحد كما هو موضح في الجدول أسفل الصفحة.	لايجاد النسبة المئوية للخلايا الشبكية في الخلايا الحمراء التي تم عدها في الحقول العشرة بالمعادلة التالية : $\frac{\text{مجموع الخلايا الشبكية في ١٠ حقول}}{\text{مجموع الخلايا الحمراء في ١٠ حقول}} \times ١٠٠$
٥.	نظف الادوات الزجاجية وموقع العمل واعد الصبغة الى مواقع حفظها وافصل التيار الكهربائي عن المجهر بعد اعتماد النتيجة.	تمهيدا لاعادة التجربة على مجموعة اخرى من العينات عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.
٦.	احسب مؤشر الخلايا الشبكية RI باستخدام المعادلة التالية: $RI = Rt\% \times \frac{\frac{P.PCV}{N.PCV}}{N}$ حيث n = ١ إذا لم تشاهد خلايا حمراء قاعدية و= ٢ إذا ظهر خلايا حمراء قاعدية وP.PCV مكداس دم المريض و N.PCV مكداس الدم الطبيعي.	للإستدلال على سرعة تكوين الخلايا الحمراء في النخاع العظمي.

عدد خلايا القطر الوهمي للحقل المجهري	٩	١٠	١١	١٢	١٣	١٤	١٥	١٦	١٧	١٨
عدد الخلايا الموجودة في الحقل المجهري	٦٣	٧٨	٩٥	١١٣	١٣٣	١٥٤	١٧٧	٢٢٠	٢٢٦	٢٥٢

الكفايــة العمليــة -١٠٧-

قياس الهشاشية الأسموزية للخلايا الحمراء

المبــدأ :

تتمثـل الهشاشـية الأسـموزية للخلايـا الحمـراء بتراكـيز المحلـول الملحـي التـي يبدأ ويكتمل فيها تحلـل الخلايـا الحمـراء.

الــهدف :

أن يكون الطالب قـادرا علـى قيـاس الهشاشـية الأسـموزية للخلايـا الحمـراء.

الأدوات والمواد اللازمة:

- ١% كلوريد الصوديوم.
- أنابيب إختبار عدد ١١ (١٠×١١٠ملم).
- ماء مقطر.
- جهاز تحليل طيفي.
- جهاز طرد مركزي.
- ماصة أوتوماتيكية سعة ٠.٦ ملم.
- ماصات زجاجية مدرجة سعة ٥ملل.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	رقـم ١١ أنبوبـة نظيفـة وجافـة مـن ١ – ١١.	لإسـتخدامها فـي تحضـير ١١محلـول مباشـر مـن كلوريـد الصوديـوم أقـل تركـيزا مـن المحلـول الملحـي NaCl.
.٢	أخلـط فـي (١) ٣,٨ ملـل مـاء مقطر مـع ١,٢ ملـل مـن ١% NaCl.	للحصـول علـى محلـول قيـاس NaCl تركـيزه ٠,٢٤%.
.٣	أخلـط فـي (٢) ٣,٦ ملـل مـاء مقطر مـع ١,٤ ملـل مـن ١% NaCl.	للحصـول علـى محلـول قياسـي NaCl تركـيزه ٠,٢٨%.
.٤	أخلـط فـي (٣) ٣,٤ ملـل مـاء مقطر مـع ١,٦ ملـل مـن ١% NaCl.	للحصول على محلول قياس NaCl تركيزه ٠,٣٢%.
.٥	أخلـط فـي (٤) ٣,٢ ملـل مـاء مقطر مـع ١,٨ ملـل مـن ١% NaCl.	للحصـول علـى محلـول قياسـي NaCl تركـيزه ٠,٣٦%.

٦.	أخلط في (٥) ٣,٠ ملم ماء مقطر مع ٢,٠ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٤٠%.
٧.	أخلط في (٦) ٢,٨ ملم ماء مقطر مع ٢,٢ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٤٤%.
٨.	أخلط في (٧) ٢,٦ ملل ماء مقطر مع ٢,٤ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٤٨%.
٩.	أخلط في (٨) ٢,٤ ملل ماء مقطر مع ٢,٦ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٥٢%.
١٠.	أخلط في (٩) ٢,٢ ملل ماء مقطر مع ٢,٨ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٥٦%.
١١.	أخلط في (١٠) ٢,٠ ملل ماء مقطر مع ٣,٠ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٦٠%.
١٢.	أخلط في (١١) ١,٨ ملل ماء مقطر مع ٣,٢ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٦٤%.
١٣.	أضف الى كل من المحاليل المحضرة الخطوات السابقة ٠,٠٢ ملل من عينة المجموعة هبارين فقط وأمزجها بالتقلب.	لتوفر إمكانية تحلل الخلايا الحمراء بفصل المحاليل المحضرة.
١٤.	تفحص المحاليل المخلوطة بعينة الدم بعد تركها ساكنة بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة.	لتحديد بداية التحلل أعلى تركيز يظهر فيه الطافي صافيا وأحمر اللون وبقية المحلول عكرا واكتمال التحلل (حيث لا يظهر أي أثر للخلايا الحمراء).
١٥.	ضمن تقريرك تركيز المحاليل الملحية الخاصة بابتداء التحلل واكتماله ومعدل التركيز (معدل الهشاشية) لعينة طبيعية.	لمقارنة نتائجها مع نتائج عينة المريض.
١٦.	قم بقياس امتصاصية الطافي الصافي للضوء على الموجة ٥٤٠ مميك بعد تعريض المحاليل للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة دقيقتين.	لحساب النسبة المئوية للتحلل (امتصاصية أي محلول تحلل جزئي الى امتصاصية محلول اكتمال تحلل مضروبة بـ ١٠٠.
١٧.	مثل العلاقة بين النسبة المئوية لتحلل الخلايا الحمراء (على المحور النسبي) وتركيز المحاليل المحلية (على المحور الصادي) بيانيا.	لمعرفة الشكل الطبيعي وغير الطبيعي لبعض الحالات المرضية كالتكور الوراثي والثلاسيميا.
١٨.	نظف الأدوات ومكان العمل وافصل التيار الكهربائي عن أجهزة الطرد المركزي والتحليل الطيفي وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لقياس هشاشية الخلايا الحمراء لعينات أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٠٨-

الكشف عن الخلايا المنجلية بالطريقة الرطبة

Wet test for Sickling

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى الكشـــف عـــن وجـــود خلايـــا حمـــراء تحتـــوي على هيموجلوبين منجلـــي عـــن طريـــق حجـــب الاكســـجين عنـــها .

المبـــدأ :

يتبلمر الهيموجلوبين المنجلي إلى بلورات عند تعرضه لنقص الأكسجين عند نضوبه بفعل Na- Metabisulphite ويجعل الخلايا الحمراء التي تحتويه منجلية الشكل .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- فازلين
- ورقة بيضاء صغيرة
- شرائح زجاجية نظيفة وجافة
- اغطية شرائح زجاجية نظيفة وجافة
- مجهر يوفر العدسات الشيئية ١٠و ٤٠
- محلول ٢% ميتابايسولفايت الصوديوم.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	وزع الفيزالين على شكل طبقـــة رقيقـــة متجانسة السمك على سطح ورقة بيضـــاء باستخدام شريحة زجاجية .	لاستخدام طبقة الفـــيزالين لاحاطـــة حواف احد سطوح غطاء الشـــريحة باطار من الفيزالين.
.٢	اغمس الحواف الاربعة لســـطح غطـــاء شريحة زجاجية بطبقة الفيزالين.	لتكوين اطار متجانس الســـمك مـــن الفيزالين على حواف سطح غطـــاء الشريحة.
.٣	امزج قطرة دم بحجم رأس القلـــم مـــع حجميـــن مـــن ٢% ميتابايســـولفايت الصوديوم (2% Na metabisulphite) كعامل مختزل للاكسجين علـــى ســـطح غطـــــاء الشـــريحة داخـــل اطـــار الفيزالين واضغط فوقـــــه شـــريحة زجاجيـــة نظيفـــة وجافـــة بشـــكل عمـــــودي.	للعمل على نضوب الاكسجين مـــن عينة الدم المحجوزة بعيدا عن الهواء بشكل محكم فـــي اطـــار الفـــيزالين ولمنع جفاف العينة.
.٤	امزج قطرة دم من العينـــة مـــع قطـــرة محلول ملحي بنفس الطريقة السابقة.	للحصول على عينة مرجعية.

٥.	قارن بين شـــكل الخلايـــاالحمراء التـــي اضيف اليها محلول ٢% ميتابايســولفايت الصوديوم الى شكل الخلايــــا الحمــــراء المضاف اليها المحلول الملحي مباشـــــرة وبعد نصف ساعة وساعتين .	للتحري عن امكانية ظهور الخلايـــا الحمراء المنجلية في حالــــة غيـــاب الاكسجين.
٦.	نظف الادوات الزجاجية وموقع العمــــل والمجهر واعد المـــــواد والادوات الـــى اماكن حفظها بعد مرور ساعتين.	تمهيدا لاستخدامها في الكشف عــــن الخلايا المنجلية عند اللزوم وللحفــاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٠٩-

قياس زمن النزف (B.T) Bleeding Time من اطراف الاصابع او ملتحمة الاذن بطريقة (Duke).

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن النزف من جرح قياسي في طرف الاصبع او في ملتحمة او شحمة الاذن.

المبدأ :

يعرف زمن النزف بأنه الزمن بالدقائق اللازم لتوقف الدم عن الخروج من جرح قياسي في ملتحمة الأذن أو طرف الاصبع ويعبر عن نشاط الصفائح الدموية. يقدر زمن النزف الطبيعي (٢-٥ دقيقة) .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ادوات وخز حادة ومعقمة (لانسيتات Lancets) .
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني Stopwatch
- ورق ترشيح

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ابدأ التوقيت لزمن النزف بعد احداث جرح قياسي في طرف الاصبع او ملتحمة الاذن.	لأن النزف يبدأ بعد تهتك الاوعية الدموية عند احداث الجرح القياسي.
٢.	اسقط سطح حافة شريحة ورقة ترشيح على الجرح القياسي وارفعها عنه بشكل عمودي كل ٣٠ثانية.	لالتقاط الدم في حالة استمرار نزفه.
٣.	استمر في الخطوة السابقة حتى لا تلتقط ورقة الترشيح أي اثر للدم.	لأن عدم ظهور أي اثر للدم على ورقة الترشيح يعني توقف الدم عن الخروج من الجرح وانتهاء زمن النزف.
٤.	احسب عدد النقط التي تم التقاطها على ورقة الترشيح.	كي يمكن التعرف على زمن النزف الذي يمكن التأكد منه بساعة التوقيت.
٥.	تخلص من ورقة الترشيح و الواخزة المستخدم ونظف موقع العمل واعد الادوات الى اماكن حفظها.	تمهيدا لاعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١١٠-

قياس زمن النزف (BT) Bleeding Time من مقدمة الساعد

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن النزف من مقدمة الساعد.

المبدأ :

يعرف زمن النزف بأنه معدل الزمن بالدقائق اللازم لخروج الدم من جرجين قياسيين في مقدمة الساعد بعد تعرضه لضغط ٤٠ملم زئبقي ويعبر عن نشاط الصفائح الدموية. يقدر زمن النزف الطبيعي بأقل من ١١ دقيقة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ادوات وخز حادة ومعقمة (لانسيتات Lancets).
- جهاز قياس ضغط الدم مع حزامه الضاغط .
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اربط ذراع المريض بحزام ضاغط وعرضه لضغط ٤٠ ملم زئبقي.	لتوفير ظروف قياسية ثابتة لنزف الدم من الجرح القياسي.
.٢	قم باحداث جرحين قياسيين في مقدمة ساعد المريض بعد تنشيط الدورة الدموية بثني الساعد وتعقيم الموقع بحيث يبعد كل منهما عن الاخر ١ سم ويسبق احدهما الاخر بدقيقة واحدة ، وفي موقع بعيد عن الاوردة السطحية.	لاتاحة الفرصة لنزف الدم من جرحين قياسيين وزيادة دقة النتائج.
.٣	التقط الدم من كل جرح على حدة بورقة ترشيح باسقاطها على الجرح ورفعها بشكل عمودي على الورقة كل ٣٠ ثانية حتى لا يظهر أي اثر للدم.	لأن عدم ظهور أي اثر للدم على سطح ورقة الترشيح دليل على توقف خروج الدم من الجرح القياسي ونهاية زمن النزف.
.٤	اعتمد معدل زمن النزف للجرحين القياسيين.	لضمان دقة النتائج.

٥.	انزع حزام الضغط عن ذراع المريض إذا تجاوز زمن النزف ١٥ دقيقة واضغط الجرح بقطعة قطن مبللة بالكحول .	لمنع تعرض المريض للنزف.
٦.	انزع حزام الضغط عن ذراع المريض وتخلص من ورق الترشيح المستخدم واعد الادوات الى اماكن حفظها ونظف الموقع.	تمهيدا لاعادة التجربة عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١١١-

قياس زمن تجلط الدم (Clotting Time) باستخدام الشرائح الزجاجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن تجلط الدم من جرح قياسي في الجلد باستخدام الشرائح الزجاجية.

المبدأ :

يعرف زمن التجلط بأنه الزمن بالدقائق اللازم لتجلط الدم بدرجة حرارة الغرفة والذي يتمثل بظهور خيط الفيبرين عند رفع رأس دبوس من مركز قطرة الدم الموجودة على شريحة بعيدا عن سطحها ١-٢ملم . تتميز هذه الطريقة بعدم امكانية التحكم بالعوامل الخارجية التي تؤثر على زمن التجلط .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ادوات وخز حادة ومعقمة (لانسيت)
- شرائح زجاجية نظيفة وجافة
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني Stop watch

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ابدأ التوقيت لزمن التجلط بعد احداث جرح قياسي في الجلد (طرف الاصبع).	لان عملية تجلط الدم عند خروج الدم من الاوعية تبدأ بملامسة سطح خارجي.
.٢	ضع قطرة دم قطرها ١-٢ ملم في وسط سطح شريحة نظيفة وجافة.	للتمكن من مراقبة عملية تجلط الدم بظهور الفيبرين.
.٣	ضع رأس الواخزة على سطح الشريحة وهي في مستوى افقي واحد مع العينين عند حافة قطرة الدم وادخله في مركزها وارفعه بعيدا عن سطحها لمسافة ١-٢ملم وكرر هذه الخطوة كل نصف دقيقة حتى ظهور خيط فيبرين.	لسحب ومشاهدة خيط الفيبرين في حالة اكتمال تكوين خيط الفيبرين دلالة على نهاية زمن التجلط.
.٤	تخلص من الواخزة ونظف الشرائح وجففها واعد الساعة الى مكان حفظها ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاعادة التجربة عند اللزوم وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة .

الكفايـــة العمليــة -١١٢-

قياس زمن تجلط الدم (Clotting Time) باستخدام الانابيب الشعرية (Capillary Tubes)

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـادرا علـى اسـتخدام الانـابيب الشـعرية فـي قيـاس زمـن تجلـط الدم (C.T) من جرح قياســي فــي الجلــد.

المبــدأ :

يعرف زمـــن تجلــط الــدم بأنـــه الزمـــن بالدقــائق الـــلازم لتجلــط الـــدم بدرجـــة ٣٧ م والذي يتمثـــل بعـــدم انسـياب الــدم فـــي الانبــوب الشــعري الخـــالي مـــن الـــهيبارين وهو في وضــــع عمـــودي. تتمــيز طريقـــة الأنـــابيب الشـــعرية بامكانيـــة التحكــم فـــي معظـــم العوامـــل الخارجيـــة التـــي تؤثـــر فـــي تجلــط الـــدم ويجــب اســـتخدامها فـــي حالة عدم توفـــر امكانيـــة اســـتخدام أنـــابيب الاختبـــار يقـــدر زمـــن التجلـــط الطبيعـــي بهذه الطريقة بــــــ٣-٥ دقــائق.

الأجـــهزة والأدوات والمـــواد اللازمـــة :

- انابيب شعرية خالية من الهيبارين.
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني Stopwatch

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اقبــض كــف يــدك اليســـرى حتـــى التعـــرق.	لاســـتخدام قبضـــة اليـــــد كحاضنة بدرجـــة ٣٧مئويـــة.
٢.	ابدأ توقيــت زمـــن التجلـــط بعـــد احـــداث جرح قياسي فـــي ســطح الجلـــد (طـــرف الاصبـــع).	لأن عمليـــة تجلــط الـــدم تبـــدأ عند خروج الـــدم مـــن الاوعيـــة الدمويـــة وملامســـته لســـطح خـــارجي.
٣.	املأ نصف انبوبـــة شـــعرية خاليـــة مـــن الـــهيبارين بـــالدم مـــن جـــرح قياســـي وضعها في راحـــة اليـــد المقبوضـــة فـــي وضع افقـــي.	لتوفـــير درجـــة الحـــرارة المثاليـــة لعمليـــة تجلـــط الـــدم (٣٧م).
٤.	اجعـــل الانبوبـــة الشـــعرية بزاويـــة مـــع وضعها الافقي كـــل نصـــف دقيقـــة مـــرة وبزيادة تدريجيـــة فـــي الزاويـــة .	لمراقبـــة انسـياب عمـــود الـــدم داخـــل الانبوبـــة الشـــعرية عنـــد امالتـــها.

٥.	استمر في الخطوة السابقة حتى توقف الدم عن الانسياب في الانبوبة الشعرية وهي في وضع عمودي .	لأن توقف الدم عن الانسياب دلالة على اكتمال زمن التجلط.
٦.	اكسر الانبوب الشعري في منتصف عمود الدم وباعد بين قسميه مسافة ١-٢ملم.	لمشاهدة خيط الفيبرين الذي يؤكد اكتمال زمن التجلط.
٧.	تخلص من الانابيب الشعرية والواخزة المستخدم ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايــــة العمليـــة -١١٣-

قياس زمن تجلط الدم (Clotting Time) باستخدام انابيب الاختبار

(بطريقة Lee &White)

الــــهدف :

ان يكون الطالب قــادرا علــى قيــاس زمــن تجلــط الــدم الوريــدي باســتخدام انــابيب الاختبــار.

المبـــدأ :

يعــرف زمــن التجلــط بأنــه الزمــن بالدقــائق الــلازم لتجلــط الــدم بدرجـــــة ٣٧م والــذي تتمثــل بعــدم انســياب الــدم فــي انبــوب الاختبــار وهــو مقلــوب. تتمــيز طريقة لـــي ووايــت بامكانيــة التحكــم فــي معظــم العوامــل الخارجيــة التــي تؤثــر علــى زمـــــن التجلـــــط. يقـــدر زمـــن التجلـــط الطبيعــــي بـــــهذه الطريقـــة (بـــ ٥ - ١١دقيقـــة) .

الأجـــهزة والادوات والمــواد اللازمــــة :

- حمام مــــائي بدرجـــة ٣٧م.
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني Stopwatch
- انــابيب اختبــار ١٠×١١٠ملــم.
- حقن سعة ٢,٥ملـــل مـــع ابرهـــا.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ضــع ثلاثــة انــابيب اختبــار فـــي حمــام مــائي بدرجـــة ٣٧م لمــــدة خمس دقــائق.	لاكتســاب الانــابيب درجــة حــــرارة الحمــام المــائي (٣٧م).
.٢	ابــدأ التوقيـــت لزمــــن التجلــــط بظـــهور الـــدم فـــي مقدمـــة الحقنــــة اثناء جمع الدم مـــن الوريــد.	لأن عمليـــة تجلــط الــدم تبــدأ عنـــد خـــروج الــــدم مــــن الاوردة وملامسته لســطح خــارجي.
.٣	وزع ٢ملــل مــــن الـــدم فـــي الانـــابيب الثلاثـــة الموجـــودة فـــي الحمام المــائي بشــكل متســاوي.	لتوفــير درجـــة الحــرارة المناســـبة لعملية تجلط الـــدم.
.٤	اخــرج الانـــابيب الثلاثـــــة مــــن الحمـــام المـــائي كــل علـــى حـــدة واملـــه تدريجيــا حتـــى الوضـــع العمـــودي المقلـــوب بحيــث يفصـــل اخـــراج أي انبـــوب عـــن اخــــراج الذي ســـبقه ٣٠ ثانيـــة.	لمراقبــة انســياب الــدم داخــل كـــل انبوب عند امالتـــــه.

لأن عدم انسياب الدم وثباته في قعر الانبوب المقلوب دليل على اكتمال تجلط الدم.	استمر في الخطوة السابقة على الانابيب الثلاثة حتى بقاء الدم ثابتا في قعر الانبوب وهو مقلوب بشكل عمودي.	٥.
لأن استخدام ثلاثة انابيب يوفر دقة عالية في معرفة زمن التجلط.	اعتمد معدل زمن تجلط الدم في الانابيب الثلاثة اذا كان متقاربا (على مدى ٣-٤ دقائق)، واعتمد معدل زمن التجلط في أي انبوبتين لا يزيد الفرق بين زمن التجلط فيها عن دقيقتين اذا زاد مدى زمن التجلط في الانابيب الثلاثة عن خمسة دقائق.	٦.
تمهيدا لاجراء التجربة مرة اخرى وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.	تخلص من الحقن المستخدمة ونظف الانابيب وموقع العمل بعد اعتماد زمن التجلط وافصل التيار عن الحمام المائي.	٧.

الكفاية العملية -١١٤-

قياس زمن البروثرومبين

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن البروثرومبين وحساب النسبة المئوية لنشاط البروثرومبين والنسبة الدولية الطبيعية للبروثرومبين (INR).

المبدأ :

يعرف زمن البروثرومبين بأنه الزمن بالثواني اللازم لتجلط البلازما المجموعة على سترات أو اكسلات بعد استعادتها لأيونات الكالسيوم بوجود ثرومبوبلاستين الأنسجة. يستخدم زمن البروثرومبين في متابعة العلاج لمميعات الدم ولتقدير كفاءة الكبد .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ٠,١ مول اكسلات الصوديوم او ٣,٨% سترات الصوديوم كمانع تجلط.
- محلول ثرومبوكاينيز Thrombokinase (خليط من ثرومبوبلاستين وكلوريد الكالسيوم).
- انابيب اختبار ١٠×١١٠ ملم عدد اربعة.
- بلازما طبيعية مرجعية.
- ساعة توقيت دقائق وثواني Stopwatch
- جهاز الكشف عن خيوط الفيبرين Fibrinometer.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اخلط حجم (٠,٥ملل) من ٠,١مول اكسلات الصوديوم مع تسعة احجام (٤,٥ملل) عينة دم في انبوب طرد مركزي.	للتأكد من عدم حدوث جلطة باستبعاد ايونات الكالسيوم.
٢.	عرض الانبوبة لقوة طرد مركزي خلال ٤٥ دقيقة من سحب العينة بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ثلاث دقائق.	لفصل الخلايا الحمراء عن البلازما.
٣.	ضع في حمام مائي بدرجة ٣٧م انبوبتين ١٠×١١٠ملم للعينة وانبوبتين اخريين للبلازما المرجعية وضع في كل منها ٠,١ملل من العينة او البلازما المرجعية واتركهم عدة دقائق.	كي تكتسب الانابيب والعينة والبلازما المرجعية درجة حرارة الحمام المائي.

٤.	اضف الـــى احـدى انـابيب العينـــة ٠,٢ملـل مـن محلـول ثرومبوكــــاينيز بدرجـــة ٣٧م وابــدأ بعــد مــرور ١٠ ثوانـــي مــن مزجــها بالعينــة بالكشــف عـــن حـــدوث جلطـــة بلازميـــة بواســطة فيبرينوميــتر او بـــاخراج الانبوبة مـــن الحمــام المــائي وامالتــها عــن وضعــها العمــودي تدريجيــا كــل نصـــف ثانية مرة حتـــى ظـــهور الجلطـــة .	لمعرفـــة زمـــن الـــبروثرمبين المبدئـــي للعينـــة عـــن طريـــق تجلط الخليـــط.
٥.	اضف الى الانبوبـــة الثانيـــة للعينـــة ٠,٢ملـل مـن محلـول ثرومبوكــــاينيز بدرجـــة ٣٧م وابــدأ بعــد مروراقـل مــن الزمــن المبدئـــي بثــانيتين الكشــف عـــن حـــدوث جلطـــة بلازمية بنفـس الطريقـــة الســابقة.	لمعرفـــة زمـــن الـــبروثرومبين الحقيقـــي والـــذي ســيعتمد فـــي التقريـــر.
٦.	قـم باعــادة الخطوتيــن ٤،٥ علـــى انـــابيب البلازمـــا المرجعيـــة .	لمعرفـــة زمـــن الـــبرو ثرومبيـــن الطبيعـــي المرجعـــي.
٧.	نظـف الانــابيب المســتخدمة وموقـــع العمـــل واعـــد المـــواد والادوات والمـــواد الـــى اماكن حفظـــها.	تمــهيدا لاعــادة التجربـــة علـــى مجموعـــة عينـــات اخـــرى عنـــد الحاجـــة وللحفـــاظ علـــى نظافـــة المكان وســـلامة البيئـــة.
٨.	ضمـــن تقريـــرك زمـــن الـــبروثرومبين للمريـــض وزمـــن بروثرومبيـــن العينـــة المرجعيـــة أو النســـبة المئويـــة لنشـــاط الـــبروثرومبين مـــن الخطـــوط البيانيـــة أو محصلة تطبيـــق المعـــادلات التاليـــة : أ. زمـــن بروثرومبيـــن المريـــض / زمن بروثرومبيـــن العينـــة المرجعيـــة	لمســاعدة الطبيــب فـــي تقييم نتيجـــة الفحـــص . لحساب نسبة البروثرومبين Prothnombin Rate(R)
	ب. زمن بروثرومبين العينة المرجعية / زمن بروثرومبين المريض × ١٠٠	لحســـاب مؤشـــر الـــبروثرومبين Proohrombin (Index)
	جـ. أرفع نسبة البروثرومبين R الى قوة المؤشر الدولي لحساسية البروثروبين (ISI) كما يلي: R^{ISI}	لحســاب النســبة الدوليـــة الطبيعيـــة للـــبروثرومبين .(INR)

الكفاية العملية -١١٥-

قياس زمن الثرومبوبلاستين الجزئي

Partial Thromboplastin Time (PTT)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على قياس زمن الثرومبوبلاستين الجزئي ومعرفة أهميته العملية.

المبدأ :

يعتمد قياس زمن الثرومبوبلاستين الجزئي على تسريع عملية تكوين عامل التجلط XIa (عامل التماس المنشط) وعامل الصفائح رقم ٣ المكون من الشحوم البروتينية والتي تعتبر أبطأ تفاعلات تجلط الدم بمساعدة الكاولين.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول ٣,٨ % سترات الصوديوم.
- معلق الكاولين في محلول منظم الباربتون (pH 7.35) وبتركيز ٥ملغم/ ملل.
- أنابيب طرد مركزي.
- جهاز طرد مركزي.
- أنابيب اختبار ١١٠×١٠ملم
- حمام مائي بدرجة ٣٧°م
- محلول شحوم فسفورية (معلق مستخلص الدماغ البشري بالكلوروفورم رسب بالإسبتون في المحلول الملحي بنسبة ١-١,٥%).
- ماصات أوتوماتكية وزجاجية.
- ملحول كلوريد الكالسيوم بتركيز ٠,٠٢٥ مول.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	أمزج الدم ٤,٥ ملل دم مع ٠,٥ملل مع محلول ٣,٨% سترات الصوديوم أو ٠,١ مول اكسلات الصوديوم وعرضها للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/لمدة ١٥ دقيقة.	لمنع تجلط الدم وفصل البلازما.
.٢	أمزج حجمين متساويين من محلول كلوريد الكالسيوم ومعلق الشحوم الفسفورية في أنبوب ١١٠ × ١٠ملم وضعه في حمام مائي بدرجة ٣٧°م لمدة لا تقل عن ٥ دقائق,	كي يكتسب الأنبوب والخليط داخله درجة ٣٧°م.

٣.	أوسم أنبوبتين ١١٠ × ١٠ ملم لكل عينة وأنبوبتين أخريين للعينة المرجعية وأمزج داخل أنابيب العينات ٠,١ ملل البلازما مع ٠,١ملل معلق كاولين وضع الأنابيب في حمام مائي بدرجة ٣٧° م لمدة ٥ دقائق.	كي يكتسب الأنابيب ومحتوياته درجة ٣٧م.
٤.	أضف الى محتويات أحد أنابيب أي عينة ٠,٢ ملل من معلق الكالسيوم والشحوم الفسفورية الذي درجة حرارته ٣٧°م وأبدأ بعد مرور ٣٠ ثانية من مزج محتويات الأنبوب الكشف عن ظهور الجلطة بواسطة الفيبرينوميتر أو بإخراج الأنبوبة وأمالتها عن وضعها العمودي تدريجيا كل نصف ثانية مرة حتى ظهور جلطة.	لمعرفة زمن الثروميوبلاستين الجزئي بشكل أولي عن طريق تشغيل ساعة التوقيت عند مزج محتويات الأنبوب وإيقافها عند ظهور الجلطة.
٥.	قم بالخطوة السابقة لكل عينة وللعينة المرجعية مرتين بحيث يبدأ الكشف عن الجلطة قبل القراءة الأولى بثلاث ثواني.	لإعتماد معدل زمن الثروميوبلاستين الجزئي في الأنبوتين في التقرير.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى مواقع حفظها.	تمهيدا لإعادة التجربة عند اللزوم وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.
٧.	قارن في تقريرك بين زمن الثرمبوبلاستين الجزئي للعينة وللعينة المرجعية (الطبيعية) وضمنه القيم الطبيعية لزمن الثرومبوبلاستين الجزئي (٣٥-٤٥ثانية).	لمساعدة الطبيب في استبعاد نقص أي من عوامل التجلط X و IX و VIII و V عن طريق زيادة زمن الثرومبلاستين الجزئي عن حده الأعلى الطبيعي (>٤٥ ثانية) وتكون الزيادة > ٧ ثوان في حالة مرض الناعور ومرض كريمستماس.

الكفاية العملية -١١٦-

قياس زمن الثرومبين Thrombin Time

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على قياس زمن الثرومبين واستخدامه في التعرف على نفاذ الفيبرينوجين أو وجود الهيبارين أو نتائج تحلل الفيبرين.

المبدأ :

يعرف زمن الثرومبين بالوقت الذي يلزم لتحول الفيبرينوجين الى فيبرين ويحدد بقياس زمن تجلط البلازما بعد إضافة الثرومبين إليها بوجود كبريتات البروتامين أو غيابها.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب إختيار ١١٠ × ١٠ملم
- ساعة توقيت بالثواني
- حمام مائي بدرجة ٣٧م
- كبريتات البروتامن في المحلول الملحي بتركيز ١٠ ملغم/د.
- ٣,٨% سترات الصوديوم أو ٠,١ مول/ لتر اوكسلات الصوديوم.
- ماصات أوتوماتيكية وزجاجة.
- محلول ثرومبين مع كلوريد الكالسيوم: يتم إذابة محتويات حاوية ثرومبين بشري (٠,٥٠) في ١ملل ماء مقطر وتمزج بعد ترويقها لمدة خمسة دقائق بدرجة حرارة الغرفة مع ٩ ملل ٠,١مول/لتر كلوريد الكالسيوم، يحضر هذا المحلول يوميا ويحفظ بدرجة ٤م.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	أمزج ٤,٥ ملل دم مع ٠,٥ ملل ٣,٨% سترات الصوديوم أو ٠,١مول /لتر أوكسلات الصوديوم وعرض الخليط للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ١٥ دقيقة.	لمنع تجلط الدم لفصل البلازما عن بقية الخلايا الدموية.
.٢	ضع ٠,٢ ملل من البلازما في كل من أربعة أنابيب ١١٠ × ١٠ملم مميزات بالأرقام ١-٤ و٠,٢ ملل من بلازما مرجعية في أنبوبتين مميزتين بالأرقام ٦،٥، وضع جميع الأنابيب بدرجة ٣٧م لعدة دقائق.	كي تكتسب الأنابيب ومحتوياتها درجة ٣٧م.

٣.	ضع في الأنابيب المميزة بالأرقام ٣، ٤ ،١,٠ ملل من محلول كبريتات البروتامين وأعدها بعد المزج للحمام المائي لعدة دقائق.	لإبطال عمل الهيبارين في حالة وجوده في العينة واكتساب درجة ٣٧م.
٤.	أضف الى الأنبوب الأول ١,٠ملل من محلول الثرومبين وكلوريد الكالسيوم بدرجة ٣٧م وأبدأ بعد مرور ١٠ ثوان الكشف عن ظهور جلطة بواسطة الفيبرينوميتر أو بإمالة الأنبوب بتزايد تدريجي كل نصف ثانية مرة.	لمعرفة زمن الثرومبين عن طريق تشغيل ساعة توقيت عند إضافة محلول الثرومين وكلوريد الكالسيوم.
٥.	أعد الخطوة الرابعة على الأنبوب رقم (٢) بحيث تبدأ الكشف عن ظهور الجلطة قبل الزمن في الأنبوب الأول بـ ٣ ثواني.	لإعتماد معدل زمن الثرومبين في التقرير عندما يزيد عن ٢٠ ثانية في حالة نفاذ الفيبرينوجين (<١٠٠ملغم/دل) او وجود الهيبارين أو نتائج الفيبرين أو زيادة تركيز أمينوجلوبولين.
٦.	نفذ الخطوات ٤ و ٥ على محتويات الأنابيب ٣و٤ وراقب شكل الجلطة.	للتعرف على مدى وجود الهيبارين وتوفر الفيبرينوجين إذ تشير زيادة زمن التجلط وتكوين جلطة متماسكة الى نقص الفيبرينوجين وتشير بقاء زمن التجلط طبيعي (</٢٠ثانية) وجلطة متماسكة الى وجود الهيبارين.
٧.	نفذ الخطوات ٤ و ٥ على محتويات الأنابيب ٥و٦ الخاصة بالعينة المرجعية.	للتعرف على مدى صلاحية المحاليل المستخدمة إذ تعتمد النتائج إذا كان زمن ثرومبين العينة المرجعية ٨ – ١٠ ثوان.
٨.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى مواقع حفظها.	تمهيدا لإجراء التجارب اللاحقة وللمحافة على نظافة الموقع وسلامة البيئية.

الكفاية العملية -١١٧-

قياس تركيز الفيبرينوجين في البلازما

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على قياس تركيز الفيبرينوجين في بلازما المريض

المبدأ :

يقاس تركيز الفيبرينوجين في عينات البلازما المجموعة على سترات بإعادة أيونات الكالسيوم بوجود الثرومبوبلاستين والسماح بتجلط البلازما وتكوين شبكة الفيبرين التي يمكن جمعها على عود خشبي أو قضيب زجاجي تذاب شبكة الفيبرين في محلول هيدروكسيد الصوديوم بمساعدة التسخين، تقاس إمتصاصية المحلول الناتج من مفاعلة الفيبرينوجين الناتج مع محلول بايوريت على الموجة الضوئية ٥٤٥ميمك.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب إختبار ١١٠ × ١٠ ملم.
- محلول بايوريت أو بنيدكيت.
- محلول كلوريد الكالسيوم بتركيز ٠,٢٥ مول/لتر.
- محلول ٠,٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم.
- أنابيب طرد مركزي.
- حمام مائي بدرجة ٧٠م.
- محلول ثرومبين تركيزه ١٠٠و/ملل.
- ماصات أوتوماتيكية وزجاجية.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أمزج ٤,٥ ملل دم مع ٠,٥ ملل من محلول ٣,٨ % سترات الصوديوم وعرض للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠ د/د لمدة ٥دقائق.	لمنع تجلط الدم وفصل البلازما عن الخلايا الدموية.
٢.	أمزج في أنبوب اختبار ٣ ملل محلول ملحي مع ١ ملل بلازما مع ١ ملل من ٠,٢٥ مول/لتر كلوريد الكالسيوم و ٠,٢ ملل محلول ثرومبين وأغمس في الخليط قضيب زجاجي وأترك الأنبوب في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة نصف ساعة.	لتوفير الظروف المناسبة لتكوين واكتمال جلطة بلازمية.

٣.	أضغط القضيب الزجاجي المغموس بالجلطة على الجدار الداخلي للأنبوب وأدره عدة مرات.	للتخلص من المحلول المصلي وجمع خيوط الفيبرين على شكل طبقة محكمة التماس مع سطح القضيب الزجاجي.
٤.	أغسل طبقة الفيبرين التي تم جمعها على سطح القضيب الزجاجي بالمحلول الملحي ٣مرات.	للتخلص من جميع بروتينات المصل.
٥.	أغمس طبقة الفيبرين الموجودة على القضيب الزجاجي في ٥ ملل محلول ٠,٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم بدرجة الغليان في أنبوب اختبار مميز بالعلامة T لمدة ٥دقائق.	للمساعدة على تحلل الفيبرين عن طريق مفاعلته مع الماء وتوفير وسط قلوي لقياس تركيز البروتين.
٦.	ضع في أنبوبة مخبرية مميزة بالحرف B ٥ مليلتر من ٠,٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم.	لإستخدامه كمحلول بلاتك في التحليل الضوئي.
٧.	ضع في أنبوبة أخرى مميزة بالرف S ٤,٩ ملل ٠,٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم مضافا لها ٠,١ ملل محلول بروتين.	لإستخدامه كمحلول قياسي في التحليل الضوئي.
٨.	أضف الى جميع الأنابيب المميزة بالحروف T,S,B ١ ملل محلول بتيديكت أو محلول بايوريت وأمزجه جيداً وأحفظه لمدة ٢٠ دقيقة.	لإستكامل مفاعلة روابط بيبتايد البروتين مع كبريتات النحاس القلوية المكونة لمحلول بنيديكيت أو بايوريت.
٩.	قم بقياس امتصاصية محلول العينة T والمحلول القياسي S على الموجة ٥٤٥ مميك بعد ضبط صفر الإمتصاصية على محلول البلانك.	لحساب تركيز الفيبرينوجين بالمعادلة التالي: تركيز الفيبرنوجين بالملغم/دل= إمتصاصة العينة × تركيز المحلول القياسي × ١٠ / امتصاصية المحلول القياسي × ١٠ ٩
١٠.	نظف الأدوات ومكان العمل بعد فصل التيار الكهربائي عن جهاز التحليل الطيفي وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة على عينات أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١١٨-

دراسة تكوين الجلطة الدموية وضمورها

Clot Formation and Retraction

الـــهدف:

أن يكون الطـــالب قـــادرا علـــى معرفـــة كفـــاءة عوامـــل التجلـــط والصفـــائح الدمويـــة عن طريق مراقبـــة تكويـــن الجلطـــة وضمورهـــا.

المبـــدأ :

يعبر شـــكل الجلطـــة الدمويـــة وآليـــة تكوينـــها عـــن كفـــاءة أو مـــدى توفـــر عوامـــل التجلط والصفـــائح الدمويـــة.

الأجـــهزة والأدوات والمـــواد اللازمـــة :

- جرح نـــازف أو عينـــة دم وريديـــة
- جهاز طـــرد مركـــزي
- أعواد خشـــبية
- حاضنـــة كهربائيـــة بدرجـــة٣٧°م.
- أنابيب شـــعرية
- أنابيب طرد مركـــزي مخروطيـــة ومدرجـــة ســـعة ١٥ ملـــل.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضـــع ٥ ملـــل دم فـــي أنبوبـــة طـــرد مركـــزي مخروطيـــة ومدرجـــة ســـعة ١٥ملل خالية مـــن مـــانع التجلـــط.	للســـماح بـــانطلاق عمليـــة التجلط في ظـــروف قياســـية.
٢.	أغمس فـــي عينـــة الـــدم عـــود خشـــبي أو سلك مثنى الـــرأس.	لإســـتخدامه فـــي انـــتزاع الجلطـــة الدمويـــة مـــن داخـــل الأنبوب بعد إكتمـــال التجلـــط.
٣.	ضع عينـــة الـــدم فـــي حاضنـــة كهربائيـــة بدرجة ٣٧م لمـــدة ٤ ســـاعات.	لتوفـــير الظـــروف المناســـبة لتجلـــط الـــدم وضمـــور الجلطـــة.
٤.	إمـــلأ أنبـــوب شـــعري مبطـــن بالـــهيبارين حتى ثلثـــه.	لإســـتخدامه فـــي قيـــاس الـــهيماتوكريت.
٥.	تفحـــص الجلطـــة الدمويـــة وتـــأكد ممـــا يلـــي: أ. وجودهـــا	لأن عدم تكـــون الجلطـــة نـــاتج عـــن إنعـــدام الفيـــبرينوجين حيـــث يظـــهر ســـطح الخلايـــا الحمراء مســـتويا.

	ب. حجمها	يقل حجم الجلطة الدموية بسبب نقص تركيز الفيبرينوجين أو عدم كفاءته حيث تظهر الجلطة عالقة بسطح المصل أو مغموسة في الخلايا الحمراء.
	ج. تجانس لونها	لأن شحوب اللون الأحمر في جزئها العلوي بالمقارنة مع جزئها السفلي ناتج عن زيادة زمن التجلط.
	د. مدى ضمورها	لأن عدم ضمورها ناتج عن نقص عدد الصفائح الدموية أو عدم كفائتها أو بسبب وجود جلوبولين غير طبيعي أو بسبب إحمرار الدم.
٦.	إنتزع الجلطة الدموية من الأنبوب المخروطي ولاحظ ما يلي: أ. طبيعة سطحها.	يتميز سطح الجلطة الدموية الطبيعية بأنه أملس ويتآكل بسبب تحلل خيوط الفيبرين عند زيادة سرعة تحول البلامينوجين الى بلازمين.
	ب. شكلها.	تتميز الجلطة الطبيعية بأنها جافة (يسقط منها قطرة أو قطرتين مصل) ومتماسكة (تحتفظ بشكلها إذ وضعت فوق سطح صلب وتتخذ شكل الوعاء) أما الجلطة غير الطبيعة فتكون رطبة وغير متماسكة وعلى شكل حبة الكمثري.
٧.	عرض ما تبقى من عية الدم للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق.	لحساب النسبة المئوية لحجم الخلايا الحمراء خارج الجلطة (< ٥% طبيعي) وحجم المصل خارج

		الجلطة (< ٤٠% طبيعي) وحجم المصل داخلها (< ٢٠% طبيعي) والذي يمكن حسابه بالمعادلة التالية:
حجم المصل داخل الجلطة % = حجم الجلطة % - (مكداس الدم% - حجم الخلايا الحمراء خارج الجلطة%)		
٨.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

قياس نتائج تحلل الفيبرين

Fibrin Split (Degradation) Products = FSP = FDP= D-Dimer

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى قيـــاس تركـــيز نتـــائج تحلـــل الفيـــبرين التـــي تعيـــق تجلط الدم وبالتـــالي زيـــادة زمنـــه.

المبـــدأ :

يضاف الثرومبين الـــى عينـــة الـــدم للتـــأكد مـــن اكتمـــال التجلـــط وتضـــاف مبطـــلات انزيمـــات الصويـــا لمنـــع تحلـــل الفيـــبرين. يخفـــف مصـــل المريـــض بعـــد الحضانـــة ويمزج مـــع حبيبـــات لاتيكـــس بجبيبنيـــات مكســـوة بالأجســـام المضـــادة لنتـــائج تحلـــل الفيـــبرين يشـــير تكتـــل حبيبـــات اللاتيكـــس الـــى وجـــود نتـــائج تحلـــل الفيـــبرين وبشكل طردي. يدل وجـــود كميـــات كبـــيرة مـــن نتـــائج تحلـــل الفيـــبرين علـــى عـــدم سلامة الكلى والكبد وعلـــى زيـــادة تنشـــيط البلازمينوجيـــن الـــى بلازميـــن.

الأجـــهزة والأدوات والمـــواد اللازمـــة :

- أنـــابيب مـــزودة بـــالثرومبين (توفرهـــا الشـــركات الصانعـــة).
- محلـــول منظـــم الجلايســـين بـــالمحلول الملحـــي (pH ٨,٢).
- معلـــق لاتيكـــس مكســـوا بالأجســـام المضادة لنتـــائج تحلـــل الفيـــبرين.
- شـــرائح مصليـــة.
- قطـــارات.
- عيدان خشـــبية
- أنـــابيب إختبـــار ١١٠ × ١١ ملـــم
- عينات مرجعيـــة ايجابيـــة وســـلبية

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أضع ٢ ملل من الـــدم فـــي أنبوبـــة جمـــع العينـــات المـــزودة مـــن قبـــل الشـــركات الصانعـــة وقلبـــها بلطـــف وضعـــها فـــي حمـــام مـــائي بدرجـــة ٣٧° لمـــدة ٢٠ دقيقيـــة.	لإذابـــة الثـــيرومبين ومبطـــلات انزيمـــات فـــول الصويـــا لتســـريع اكتمـــال التجلـــط ولمنع تحلـــل الفيـــبرين.
٢.	عـــرض محتويـــات الأنبوبـــة للطـــرد المركـــزي بســـرعة ٣٠٠٠ د/د لمـــدة ٥ دقـــائق.	لفصـــل المصـــل عـــن الجلطـــة الدمويـــة.
٣.	إســـتخدام أنبوبتيـــن يمزتيـــن بالنســـب ١/٥ و١/١٠ لكـــل عينـــة وأمـــزج مـــن	للحصـــول علـــى عينـــة مصـــل مخففة بنســـبة ١/٥.

	المميزة بنسبة ١/٥ ٠,٠٨ ملليتر محلول منظم جلايسين مع ٠,٢ مليلتر مصل المريض.	
.٤	أمزج في الأنبوبة المميزة بالنسبة١/١٠، ٠,٥ ملل من محلول منظم الجلايسين مع ٠,٥ ملل من الخليط الموجود في الأنبوبة المميزة بالنسبة ١/٥.	للحصول على عينة مصل مخففة بنسبة ١/١٠.
.٥	ضع قطرة من المصل المخفف من كل من الأنابيب ومن العينة المرجعية في حلقة أو تجويف شريحة معلقة واضف الى كل منها قطرة من معلق حبيبات اللاتيكس وأمزجها بعود خشبي أو بلاستيكي.	لتوفير فرصة التفاعل المصلي بين نتائج تحلل الفيبرين المتوقع وجودها في العينات وإجسامها المضادة المثبتة في سطح حبيبات اللايتكس.
.٦	أكشف عن وجود تكتل لحبيبات اللاتيكس بعد تقليب محتويات الشريحة لمدة دقيقتين.	لاستنتاج مدى توفر نتائج تحلل الفبرين بشكل تقريبي إذ يشير ظهور التكتل في الأنبوب المميز بالنسبة ١/٥ إلى أن تركيز نتائج تحللالفيبرين تقدر ب ١٠–٢٠ ميكغم/ملل ويشير ظهور التكتل في الأنبوب المميز بالنسبة ١/١٠ الى أن تركيز نتائج تحلل الفيبرين تزيد عن ٢٠ ميكغم/ملل. علما أن القيم الطبيعية تساوي ٨–١٠ ميكغم/ملل.
.٧	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	تمهيدا لإجراء التجربة مرة أخرى عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

فحص السائل المنوي

Seminal Fluid Examination

الـــهدف :

أن يكـون الطـالب قـادرا علـى إجـراء فحـص شـامل للسـائل المنـوي للكشـف علـى مـا هـو غـير طبيعـي فـي خصائصـه الفيزيائيـة والحيويـة لإسـتبعاد مسـاهمته فـي عـدم الإنجـاب واسـتبعاد تعـرض مصـادره الحيويـة (الخصيتيـن، الحويصـلات المنويـة والبروسـتات وغـدد لـتر وكوبـر) لأي مـن العوامـل المرضيـة.

المبـدأ :

يفضـل جمـع السـائل المنـوي فـي المختـبر كـي يتـم البـدء بشـكل مباشـر فـي إجـراءات الفحـص الشـامل عليـه بعـد توقـف لمـدة ٣ أيـام عـن الإتصـال الجنسي.

الأجـهزة والأدوات والمـواد اللازمـة :

- حاويات نظيفة وجافـة سـعتها حوالـي ٢٠مللـتر وفتحـها مناسـبة (>٥سـم).
- شـرائح زجاجيـة.
- أغطيـة للشـرائح الزجاجيـة.
- شريحة نوبر المحسـنة لعـد الخلايـا.
- محلـول اليفـير Alevaire (محلـل المخـاط).
- محلـول ٥% كربونـات الصوديـوم و ١% فورمـالين.
- ماصات تومـا لعـدد الخلايـا.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	زود المريـض بالحاويـة النظيفـة الجافـة وأطلـب منـه أن يجمـع سـائله المنـوي في محيـط المختـبر بالإسـتمناء اليـدوي أو الآلـي.	كـي تبـدأ فـي إجـراءات الفحص العيـاني مباشـرة بعـد جمع العينـة.
٢.	لاحـظ لـون وقـوام ورائحـة العينـة خلال نصـف سـاعة مـن جمعـها وتـأكد مما يلـي: أ. تجلط العينة مباشـرة بعـد القـذف. ب. الزمـن الـلازم لتحلـل الجلطـة	كـي نتـأكد مـن توفـر خصائصـها الطبيعيـة والتـي تتمثـل بـأن السـائل المنـوي الطـازج شـديد اللزوجـة وغـير شـفاف ويتجلـط

	ويجب التفريق بين شدة اللزوجة والتأخير في تحلل الجلطة. جـ. شفافية العينة.	مباشرة بعد القذف وبتميع خلال ١٠ – ٢٠ دقيقة. لأن عدم تجلط العينة يشير الى خلل أو عدم وجود الحويصلات المنوية المسؤولة عن توفير الفيبربنوجين.
٣.	قم بقياس حجم السائل المنوي في مخبار مدرج سعته ١٠ ملل نظيف وجاف.	يقدر حجم السائل المنوي الطبيعي بـ ١,٥ – ٥,٥ ملل ولوحظ بشكل غير متوقع زيادة الحجم بشكل محسوس عند الذكور غير القادرين على الإخصاب.
٤.	إستخدم ماصات توما الخاصة بعد الخلايا البيضاء لتخفيف العينة بمحلول كربونات الصوديوم والفورمالين بنسبة ١:٢٠ مباشرة بعد حضنها.	لإيقاف نشاط الحيوانات المنوية وحركتها بالفورمالين ولإنقاص كثافتها لمنع تراكمها فوق بعضها أثناء العد.
٥.	قم بعد الحيوانات المنوية الموجودة في ما مساحته ٠,٤ ملم^{٢} (4W) من شريحة نوبر بعد دقيقتين من شحن حجرات العد بالعينة المخففة.	للسماح بإستقرار الحيوانات المنوية على سطح شريحة العد واستخدام العدد الناتج في حساب عدد الحيوانات المنوية في كل ملل كما يلي: 4W ×5000 يقدر عدد الحيوانات المنوية بـ ٦٠ – ١٥٠ مليون/ملل ويعتبر أمرا غير طبيعيا نقص العدد عن ٢٠ مليون/ملل.
٦.	ضع قطرة من السائل المنوي بعد تميعه على غطاء شريحة يحيط بحوافها طبقة متجانسة من الفازيلين وأضغط فوقها بشكل أفقي شريحة زجاجية نظيفة وجافة بدرجة حرارة الجسم.	تمهيداً لدراسة نشاط الحيوانات المنوية الممثل بحركتها ولتحديد عمق قياسي ثابت لعينة السائل المنوي.
٧.	راقب حركة حوالي ٢٠٠ حيوان منوي موزعة في عدة حقول	لمتابعة نشاطها على فترات زمنية متلاحقة حيث تزيد

	مجهرية بالعدسة الشيئية ٤٠ بعد ساعة من القذف وبعد ٣ ساعات و ٤ ساعات.	نسبة الحيوانات المنوية النشيطة بعد ساعة من القذف عن ٨٠% وبعد ٣ ساعات عن ٦٠% ويقل النشاط بنسبة ٥%/الساعة بعد ٤ ساعات من القذف.
.٨	صنف الحيوانات المنوية في مرة بناء على طبيعة حركتها الى ما يلي: أ. حيوانات منوية نشيطةActive. ب. كسولة Sluggish ج. ميتة Dead	 لأن حركتها غير موضعية (تنتقل من موقع الى اخر). لأن حركتها موضعية حول نفسها. لأنها لا تتحرك نهائيا.
.٩	تأكد من عدم وجود خلايا صديدية وخلايا طلائية بشكل غير طبيعي.	لإستبعاد الالتهابات والأورام.
.١٠	إستخدم العدسة الزيتية في مشاهدة أشكال الحيوانات المنوية في شريحة محضرة ومصبوغة بنفس خطوات ومواد تحضير شرائح الدم المصبوغة.	للتعرف على أشكال الحيوانات المنوية الطبيعية وغير الطبيعية.
.١١	صنف الحيوانات المنوية بعد مشاهدتها في الشريحة المصبوغة الى ما يلي: أ. طبيعية. ب. غير طبيعية.	لأن رؤوسها مخروطية مدببة ومبسطة ويشكل طولها ٢٥% من طول الحيوان المنوي وطول الذيل ٥٠% والعنق ٢٥%. تزيد النسبة المنوية للحيوانات المنوية الطبيعية في أشكالها عن ٧٠% من حيوانات السائل المنوي الطبيعي. لأنها قد تكون ثنائية الرأس أو الذيل أو قد تكون رؤوسها كروية أو غير مميزة الشكل أو عملاقة أو

		قد تكون ذيولها طويلة أو قصيرة.
١٢.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها بعد فصل التيار الكهربائي عن المجهر.	استعدادا لفحص عينات أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٢١-

الفحص الكامل لسائل النخاع الشوكي

Cerobrospinal Fluid (CSF) Examination

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء فحص مخبري شامل لعينة سائل النخاع الشوكي وعلى تعليل ما قد تسببه الحالات المرضية المختلفة من تغيير في خصائصه الفيزيائية والكيميائية والحيوية.

المبدأ :

نظرا لما قد يتعرض له المريض من معاناه ومضاعفات خطرة عند جمع عينة CSF, فيجب عدم اللجوء الى فحصه مخبريا الا في حالة الضرورة القصوى كما يجب الحرص على فحصه مخبريا بشكل شامل من كافة الوجوه الفيزيائية والكيميائية والحيوية والخلوية والمصلية لإستبعاد أية عوامل مرضية محتملة.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- جهاز تحليل طيفي.
- كجهر أو عدسات مشبه,
- حاضنة كهربائية.
- موقد منسوب.
- شرائح زجاجية وأغطيتها.
- سلك حقن بلاتيني Wireloop
- صبغة وايت أو لبشمان.
- محلول ٧% فينول
- الأدوات اللازمة لعد الخلايا البيضاء.
- المواد الخاصة بصبغة جرام وبصبغة ذيل نيلسون.
- ماصات أوتوماتكيية وماصات زجاجية.
- محلول ٣٣% حامض الاستيتك مضاف إليه قطرتين من أزرق الميثيلين أو مشتقاته.
- مجموعة المحاليل اللازمة لقياس الجلولوز والكلور في المصل.
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ملم وأنابيب طرد مركزي.
- مجموعة المحاليل والأدوات اللازمة للكشف عن السفلى.
- أوساط غذائية مناسبة
- حاويات نظيفة وجافة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	وفـــر للطبيـــب حاويـــات نظيفـــة وجافـــة ومعقمة قبل الشـــروع فـــي جمـــع ســـائل النخاع الشـــوكي.	لتوزيـــع العينـــة فـــي ثـــلاث حاويـــات تمثـــل أجـــزاء العينـــة مـــن حيـــث خـــروج الســـائل والأول والأوســـط والأخـــير.
٢.	تفحـــص أجـــزاء العينـــة الثـــلاث بـــالعين المجردة وتـــأكد مـــن : أ. الشفافية ودرجـــة التعكـــير.	للتعـــرف علـــى لـــون وقـــوام ســـائل النخـــاع الشـــوكي فـــي الحاويات الثـــلاث يشـــبه المـــاء الصـــافي عندمـــا يكـــون طبيعيـــا.
	ب. لون سائل النخـــاع الشـــوكي بعـــد جمعه مباشـــرة.	يظهر ســـائل النخـــاع الشـــوكي العكـــر بـــاللون الأحمـــر بســـبب الخلايـــا الحمـــراء وأبيـــض كريمـــي بســـبب الخلايـــا البيضـــاء أو الجراثيـــم ومـــائل للزرقـــة أو الإخضـــرار بســـبب المكـــورات الســـبحية. ويظـــهر الســـائل الصـــافي بـــاللون الأصفر الفـــاقع بســـبب اليرقـــان وبـــاللون الأصفـــر البـــاهت بســـبب زيـــادة تركـــيز الـــبروتين.
	ج. ظهور جلطـــة الفيـــبرين.	بســـبب وجـــود الفيـــبرينوجين وزيـــادة تركـــيزه نتيجـــة تـــهتك الشـــعيرات الدمويـــة أثنـــاء جمعـــه أو بســـبب التـــهاب الســـحايا أو إنســـداد مجـــرى الســـائل.
	د. تأكد مـــن توزيـــع الخلايـــا الحمـــراء في حالـــة وجودهـــا فـــي الحاويـــات الثـــلاث.	تتســـاوى نســـبة الخلايـــا الحمـــراء فـــي الحاويـــات الثلاثـــة عندمـــا يكـــون ســـببها الـــنزيف فـــي مجـــرى الســـائل وليس تـــهتك الشـــعيرات أثنـــاء جمـــع العينـــة حيـــث يظـــهر الطافي عديـــم اللـــون.

٣.	عرض جزءا من العينة من إحدى الحاويات للطرد المركزي.	لفصل الجلطة وما تحتويه من خلايا أو جراثيم عن السائل الطافي الذي يستخدم في التجارب الكيميائية.
٤.	حضر لطخة جرثومية أخرى من الراسب وأصبغها بصبغة جرام.	للتعرف على طبيعة الجراثيم أو الفطريات أو الطفيليات في الرواسب.
٥.	حضر لطخة جرثومية أخرى من الراسب وأصبغها بصبغة زيل نيلسون عند مشاهدة عصيات غير مميزة بصبغة جرام.	لإستبعاد جرثومة السل من الرواسب.
٦.	أزرع عينة سائل النخاع الشوكي على الوسط وفي الظروف التي تناسب طبيعة الجراثيم التي يمكن مشاهدتها باللطخات الجرثومية.	للتأكد من طبيعة الجراثيم المميزة في اللطخات.
٧.	أملأ ماصة توما الخاصة بالخلايا البيضاء حتى العلامة ١ بمحلول التخفيف ٣٠% حامض الاسيتيك الملون بصبغة المثيلين الزرقاء ومن ثم أكمل ملئ الماصة بعينة سائل النخاع الشوكي بعد مزجها جيدا حتى العلامة ١١.	للتخلص من الخليا الحمراء في حالة وجودها وإبراز نواه الخلاي البيضاء.
٨.	قم بملئ حجرات العد في شريحة نوبر على الجانبين بمحلول العينة كما في حالة عد الخلايا الدموية.	لعد الخلايا البيضاء التي تظهر في ما مساحته ١٨ملم^{2} (18W) وحساب النتيجة بإستخدام المعادلة التالية عدد الخلايا البيضاء/ملم^{3} = عددها في ١٨ ملم^{2} × ٩/٥.
٩.	إستخدم طريقة قياس تركيز الجلوكوز في المصل أو البلازما المستخدمة في قياس تركيز الجلوكوز في سائل النخاع الشوكي مع ضرورة مضاعفة حجم العينة عن حجم عينة المصل مرتين أو أكثر وأخذ ذلك بالإعتبار عند عملية الحساب.	لأن تركيز جلوكوز سائل النخاع الشوكي الطبيعي يعادل٢/٣ تركيزه في المصل (٧٠ ملغم /دل في حالة الصيام) ويقل بشكل محسوس أو يكاد أن ينعدم في الإلتهابات الجرثومية للسحايا ويبقى طبيعيا في التهابات السحايا الأخرى مع زيادة عدد الخلايا البيضاء.
١٠.	أسقط قطرة من الطافي الصافي	للكشف عن وجود

	لسائل النخاع الشوكي في حوالي ٢ ملل محلول ٧% فينول.	الجلوبولين الذي يستدل عليه بظهور تعكير في مسار ال قطرة وبشكل طردي.
.١١	إستخدم تجربة باندي Pandy لقياس تركيز بروتين سائل النخاع الشوكي بالتعكير.	لأن تركيز البروتين في سائل النخاع الشوكي الطبيعي أقل بشكل محسوس من بروتينات المصل ويعادل ١٥-٤٥ملغم/دل ويزيد بشكل معتدل (<٥٠٠ ملغم/دل) في حالة التهاب السحايا وأمراض النظام العصبي وبشكل محسوس في حالات النزف أو إنسداد مجرى سائل النخاع الشوكي (٥٠٠ – ١٠٠٠ ملغم/دل).
.١٢	استخدم تجربة قياس كلور في المصل في قياس تركيز الكلور في سائل النخاع الشوكي.	لأن تركيز الكلور الطبيعي يعادل ١١٨ – ١٢٢ ممول/لتر ويقل في حالة التهاب السحايا بسبب نفاذيتها ونقص تركيزه في البلازما.
.١٣	قم بفحص VDRL أو Khan أو بدائلها على الطافي الصافي لعينة سائل النخاع الشوكي في حالة زيادة عدد الخلايا البيضاء وعدم ظهور الحبيبات المتعادلة.	لإستبعاد مرض الزهري.
.١٤	نظف الأدوات والأجهزة المستخدمة ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	إستعدادا الإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٢٢-

فحص السوائل المصلية

Serous Fluids Examination

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف على السوائل المصلبة والتي تتجمع في الأغشية حول الأعضاء الداخلية وتشمل سوائل الأغشية المحيطة بالرئات Pleural fluids والقلبPericardial fluids والأمعاء Peritoneal fluids وسوائل الأديما Ascitc fluids والتفريق بين الإلتهابيةExudates وغير التهابية Transudates.

المبدأ :

نظرا لما قد يتعرض له المريض من معاناة ومضاعفات خطرة عند جمع عينة السوائل المصلية فيجب عدم اللجوء الى الكشف عنها مخبريا إلا في حالة الضرورة القصوى وكما يجب الحرص على فحصها بشكل كامل من كافة الوجوه الفيزيائية والكيميائية والحيوية للتفريق بين السوائل الالتهابية وغير الالتهابية التي تنشأ بسبب زيادة الضغط الأسموزي والمائي داخل الشعيرات الدموية الخاصة بجدران الفراغات الداخلية.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- جهاز تحليل طيفي.
- مجهر مزود بعدسات شيئية ١٠ و٤٠ و١٠٠.
- أدوات عد الخلايا الدموية.
- جهاز طرد مركزي
- ماصات أوتوماتيكية وزجاجية.
- شرائح زجاجية وأغطيتها.
- صبغة رايت أوليشمان.
- مخبار مدرج سعة ١٠٠ مللتر.
- سلك حقن بلاتين Wire Loop
- موقد لهب بنسون.
- المواد الخاصة بصبغة جرام وزيل نيلسون وبابنيكولو Papanicoloue
- حامض الاسيتيك مركز.
- ١٠% هيدروكسيد الصوديوم.
- مجموعات محاليل الخاصة بقياس تركيز كل من الجلوكوز والبروتين وقياس نشاط أنزيمات LDH والأميليز.
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم وأنابيب طرد مركزي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	وفر للطبيب حاويتين نظيفيتين ومعقمتين في إحداها عدة نقط محلول ٣,٨% سترات الصوديوم.	لجمع ٢ مللتر من السائل المصلي في كل منها حيث يستخدم أحدها في التعرف على وجود الفيبرينوجين.

٢.	تفحص عينة السائل المصل بالعين المجردة وتأكد من : أ. الشفافية ودرجة التعكير. ب. اللون ج. ظهور جلطة الفيبرين في العينة الخالية من مانع التجلط.	للتعرف على لون وقوام العينة حيث تظهر صافية وبلون التبن الجاف عندما تكون طبيعية. تتعكر السوائل المصلية الالتهابية بسبب ما قد تحتويه من خلايا حمراء أو بيضاء أو طلائية أو خيوط الفيبرين في حين تبقى السوائل غير الالتهابية صافية بلون البتن الجاف. يساهم لون العينة في معرفة سبب تجمعها وطبيعة الرواسب فيها، تكون العينة حمراء بسبب الخلايا الحمراء أو صفراء بسبب البيليروبين الناتج عن تقرحات الكيس الصفراوي أو الإثنا عشر أو التهاب البنكرياس وقد تكون حليبية بسبب زيادة الشحوم عند انسداد القنوات الصفراوية أو بسبب الخلايا الطلائية أو الصديدية. تظهر جلطة الفيبرين في حالة وجود الفيبرينوجين الذي يميز السوائل الالتهابية عن غير الالتهابية.
٣.	أسكب عينة السائل المصلي المجموعة في مخبار مدرج سعة ١٠٠ ملل.	لقياس حجم السائل المصلي الذي لا يزيد عن ١ملل في الحالة الطبيعية.
٤.	أضف عدة نقط من ١٠% محلول هيدروأكسيد الصوديوم الى جزء من العينة إذا كان مستحلبة المظهر.	لأنها ستفقد تعكيرها وتصبح صافية بعد المزج من هيدروكسيد الصوديوم إذا كانت الشحوم سبب التعكير.

٥.	قم بقياس الرقم الهيدروجين للعينة (pH).	لان الرقم الهيدروجيني للسائل المصلي الطبيعي يقدر بحوالي ٧,٤ وتزيد الحامضية (<٧,٢) نتيجة تسرب عصير المعدة عند تقرح جدارها والتهاب الغشاء المبطن للرئات أو الالتهاب السلي أو تجمع صديدي في الفراغات الداخلية وتقل الحامضية (>٧,٥) بسبب وجود أورام.
٦.	عرض جزءا من العينة بعد مزجها للطرد المركزي في أنابيب طرد مركزي نظيفة ومعقمة بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٥ دقائق.	لترسيب الأجسام الخلوية لإستخدامها في الفحص الجرثومي والخلوي والحصول على الطافي الصافي لاستخدامه في الفحوصات.
٧.	قم بقياس تركيز الجلوكوز والبروتين ونشاط LDH والأميلز في الطافي الصافي من السائل المصلي بنفس الطرق الخاصة بعينات المصل والبلازما.	لأن تركيز البروتين في السائل المصلي والطبيعي يعادل ١ – ٢ غم /دل ويزيد عن ٣غم /دل في السوائل الالتهابية ويبقى تركيز جلوكوز السوائل غير الالتهابية مساويا لتركيزه في الدم ويقل في السوائل الالتهابية الجرثومية أو الروماتيزمية أو وجود أورام سرطانية كما يزيد نشاط LDA والسوائل المضلية بسبب الأورام السرطانية العلانية والمتشيه ويزيد عن ٥٥٠ وحدة في السوائب الالتهابية في حين يقل عن ٥٥٠ وحدة في غير الالتهابية.
٨.	استخدم قطارة مغسولة بحامض الخل مركز وشبه جافة في ملء حجرات شريحة عد الخلايا بجزء	لعد الخلايا البيضاء الموجودة على سطح ١٨ ملم٢ (18w) بحيث تستخدم

	من العينة بعد حقنها مباشرة على الجانبين.	التالية في حساب عددها في كل ملم^3 عددها/ملم^3= **عددها في ١٨ملم^2 × ٥/٩** يزيد عددها عن ١٠٠٠/ملم^3 في السوائل الالتهابية.
.٩	حضر لطخة جرثومية من رواسب السائل المصلي واصبغها بصبغة جوام.	للتعرف على طبيعة الجراثيم الموجودة في العينة.
.١٠	حضر لطخة جرثومية أخرى من رواسب العينة وأصبغها بصبغة زيل نيلسون عند مشاهدة عصيات جرثومية غير مميزة بصبغة جرام.	لاستبعاد جرثومة السل.
.١١	حضر شريحة من رواسب العينة بنفس طريقة تحضير طبقة الدم واصبغها بصبغة رايت أو ليشمان.	للتعرف على نوعية الخلايا الموجودة في العينة إذ تزيد الخلايا الصديدية في الالتهابات الجرثومية الحادة والخلايا الليمفاوية في الالتهابات الفيروسية والسل والجرثومية المزمنة والأمراض الليمفاوية المتشعبة كما تزيد المحببات الحامضية بسبب الحساسية وتزيد الخلايا الطلائية بسبب الأورام السرطانية.
.١٢	حضر لطخة جرثومية وأصبغها بصبغة Papanicoloue وخاصة عند مشاهدة زيادة محسوسة في الخلايا الطلائية.	لإستبعاد الخلايا السرطانية.
.١٣	أفصل التيار الكهربائي عن الأجهزة ونظف المجاهر والأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	إستعدادا لتنفيذ تجارب جديدة وللمحافظة على نطاقه الموقع وسلام البيئة.

الكفاية العملية -١٢٣-

تحضير صبغات رومانوسكي (رايت وليشمان وجيمزا) لشرائح الدم

Preparation Of Romanowsky Stains
(Wright, Leisman and Giemza)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير أي من صبغات رومانوسكي (رايت، وليشمان، وجيمزا) المستخدمة في صبغ شرائح الدم لتميز الخلايا الدموية عن بعضها.

المبدأ :

تستخدم أي من صبغات رومانوسكي المكونة من خليط من صبغة الميثلين الأزرق (Methylene Blue) القاعدية لصبغ النواة والأجزاء القاعدية من السيتوبلازم وصبغة الأيوسين (Eosin) لصبغ بعض أجزاء السيتوبلازم. تختلف صبغات رومانوسكي عن بعضها بنسب مكونات الخليط الى بعضها وبطريقة تحضيرها. تحضر محاليل صبغات رومانوسكي عادة بالكحول الميثيلي كمذيب ومثبت أو بالجليسرول كمذيب.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مسحوق صبغة رومانسكي (جيمزا، ليشمان، رايت)
- دورق مخروطي سعته ٢٥٠ ملل أو دورق قياس سعة ٥٠٠ ملل.
- هاون
- جليسرول
- قمع عادي
- دورق ترشيح – زجاجية بنية اللون – حاضنة كهربائية

أ. تحضير صبغة رايت وليشمان

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أملأ دورق قياسي سعة ٥٠٠ ملل بالكحول الميثيلي الخالي من الأسيتون	لاستخدامه في إذابة الصبغة
٢.	قم بوزن ٠.٩ غم مسحوق صبغة رايت أوليشمان.	لاذابتها في ٥٠٠ ملل كحول ميثيل.
٣.	ضع مسحوق الصبغة الموزون في الخطوة السابقة في هاون	للمساعدة على اشباع الكحول بالصبغة.

	واسحقه في حوالي ٧٠-١٠٠ ملل من الكحول الميثلي.	
.٤	اسمح بترويق مسحوق الصبغة في قاعدة الهاون خلال ٥-١٠ دقائق وانقل الطافي الصافي الى زجاجات بنية اللون ومحكمة الإغلاق لحفظها.	لفصل الطافي الصافي عن مسحوق الصبغة المتبقي.
.٥	أعد سحق بقايا الصبغة بحوالي ٧٠-١٠٠ ملل كحول ميثيلي والترويق عدة مرات حتى استنفاذ ٥٠٠ ملل كحول.	لاستكمال إذابة كمية الصبغة الموزونة في الهاون ونقلها الى زجاجة الحفظ.
.٦	قم بخض محلول الصبغة يوميا لمدة ٣أسابيع.	لإذابة أكبر جزء ممكن من مسحوق الصبغة المترسب.
.٧	قم بترشيح الصبغة قبل استخدامها.	للتخلص من مسحوق الصبغة الفائض عن اشباع الميثانول وبالتالي منع روسوبه فوق شريحة الدم.
.٨	أحفظ الصبغة بعيدا عن الأحماض والقلويات.	لمنع تأثر مكوناتها ببخار الأحماض أو القلويات.
.٩	أستخدم محلول الصبغة مباشرة بدون تثبيت شريحة الدم.	بسبب استخدام الميثانول في تحضير محلول الصبغة وهو الذي يقوم بدور المثبت.
.١٠	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد المستخدمة الى أماكن حفظها.	تمهيدا لاستخدامها في تحضير المزيد محلول صبغة راتب وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

ب. تحضير صبغة جيمزا

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	أمزج جيدا ١غم مسحوق صبغة جميزا مع ٦٦ ملل جليسرين في دورق مخروطي سعته ٢٥٠ملل.	لإذابة مسحوق الصبغة في الجليسرين.
.٢	ضع محلول الصبغة الناتج من الخطوة السابقة في حاضنة كهربائية بدرجة ٥٠م لمدة ساعتين.	للعمل على اشباع الجليسرين بصبغة جيمزا.

٣.	أضف الى المحلول ٦٦ملل ميثانول خالي من الاسينون.	للمساعدة على إذابة مسحوق الصبغة وتثبيت شريحة الدم على شريحة الزجاج.
٤.	أحفظ الصبغة بدرجة حرارة الغرفة لمدة أسبوع.	للسماح بترويق الفائض من مسحوق الصبغة عن الإشباع.
٥.	أنقل الطافي الصافي الى زجاجة بنية اللون.	لفصل المحلول المشبع عن فائض المسحوق وحفظها.
٦.	قم بترشيح محلول الصبغة قبل استخدامها.	للتخلص من مسحوق الصبغة الفائض عن اشباع المذيب.
٧.	أحفظ محلول الصبغة بعيدا عن الأحماض والقلويات.	لمنع تأثر مكونات الصبغة ببخار الحامض أو القلويات.
٨.	أستخدم محلول الصبغة مخففا بالماء المقطر ٥-١٠ مرات بعد تثبيت شريحة الدم بالميثانول.	لتجنب ترسيب الصبغة على الشريحة الدم ولتدني تركيز الميثانول في المحلول المخفف.
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	تمهيدا لتحضير المزيد من محلول الصبغة وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٢٤-

تحضير صبغات الخلايا الشبكية

صبغات New Methylene Blue أو Brilliant Cresyl Blue

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير محلول لصبغ الخلايا الشبكة وتمييزها عن بقية الخلايا الدموية.

المبدأ :

تحضر صبغات الخلايا الشبكية بإذابة مسحوقها في سترات المحلول الملحي وتعمل على ترسيب جزيئات RNA المكونة لسلسلة الخيوط المتشابكة التي تميز الخلايا الشبكية عن بقية الخلايا الحمراء.

الادوات والمواد اللازمة :

- مسحوق صبغة New Methylene Blue أو Brilliant Cresyl Blue
- محلول ملحي فسيولوجي (N.S)
- محلول ٣% سترات الصوديوم
- دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ ملل
- مخبار مدرج سعة ١٠٠ ملل.
- قمع ترشيح
- ورق ترشيح
- حاوية سعة ١٠٠ ملل بسداد محكم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أخلط في مخبار مدرج سعة ١٠٠ ملل ٢٠ ملل من محلول ٣ % سترات الصوديوم مع ٨٠ ملل من المحلول الملحي.	لتحضير ١٠٠ ملل من المذيب المناسب للصبغة.
٢.	أمزج بشكل جيد ١غم من مسحوق الصبغة مع ١٠٠ ملل من المذيب المحضر في الخطوة السابقة في دورق مخروطي سعة ٢٥٠ ملل.	لتحضير محلول مشبع من صبغة الخلايا الشبكية.
٣.	قم بترشيح محلول الصبغة الناتج واحفظ الراشح في زجاجة سعتها ١٠٠ ملل.	لفصل الفائض من مسحوق الصبغة عن محلولها المشبع ومنع ترسبها على الشريحة الدم.
٤.	نظف المكان والأدوات وضع الأدوات والمواد المستخدمة في أماكن حفظها.	تمهيدا لتحضير محلول الصبغة عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الفصل السادس

بنك الـدم

Blood Bank

الكفاية العملية -١٢٥-

إختيار المتبرع بالدم وفحصه

الــــهدف :

أن يكون الطـــالب قـادرا علـى اكتسـاب ثقـة المتـبرعين واختيـار المناسـب منـهم للتبرع بـــالدم أو أي مـن مكوناتـه بحيـث يوفـر حاجـات الفئـة المسـتهدفة لخدمـة بنك الدم بدون أن يتعرض لأيـــة مضاعفـات صحيـة سـالبة نتيجـة تبرعـه.

المبــدأ :

تعتـبر اللياقـة الصحيـة للمتـبرع وسـلامته وتوفـير حاجـة المريـض مـن الـدم أو أي من مكوناته أساس جميـع الإجـراءات المتخـذة فـي عمليـة اختيـار المتـبرع.

الأجــهزة والأدوات والمــواد اللازمـــة :

- جهاز قياس ضغـــط الــدم
- ميزان ومسـطرة قيـاس الطـول
- صبغة رايـت أو ليشـمان
- مـواد VDRL
- الأدوات والمـــواد اللازمـــة لقيـــاس الـــهيموجلوبين أو الـــهيماتوكوريت أو محـاليل كبريتـات النحـامس بكثافـات نوعيـة ١.٠٤٥ و ١,٠٥٥ لإسـتبعاد فقر الـدم.
- الأجـهزة والأدوات والمـواد اللازمـة للكشـف عـن فيروسـات نقـص المناعـة المكتسبة والتـهاب الكبـد الفيروسـي وتضخـم الخلايـا (CMV) واليرقـان.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تحلـى بـالصبر والبشاشـة وسـعة الصدر عنـد اسـتقبال المتـبرعين	لإكتسـاب ثقتـهم وتعزيـز قـرار التـبرع بـالدم وخاصـة لأول مـرة.
٢.	فـي بطاقـة المتـبرع دون المعلومـات التاليـة: **اسم المتـبرع ورقمـه المتسلسـل** **عنوانه ورقـم تليفونـه.** **عمـره** **ومهنتـه** **التاريخ وتاريخ آخـر تـبرع** **التاريخ المرضـي للمتـبرع وعائلتـه**	لتوثيقـها فـي السـجلات والرجوع إليـها أو الإتصـال بـه عند الحاجـة.
٣.	قم بقيـاس وزن المتـبرع وطولـه	لأنـه يجـب أن يكـون هنـاك تناسـق بيـن طـول المتـبرع ووزنـه بحيـث لا يقـل الـوزن عـن ٥٠ كغـم والطـول عـن ١٥٠سـم.

.٤	قم بقياس ضغط دم المتبرع ونبضه.	لإستبعاد التبرع بالدم بشكل مؤقت إذا تبين وجود الإضطراب في ضغط دم المتبرع.
.٥	قم بقياس تركيز الهيموجلوبين أو الهيماتوكريت في دم المتبرع.	لإستبعاد التبرع بالدم بشكل مؤقت إذا تبين أن المتبرع يعاني من فقر دم عندما تكون النتائج كما يلي هيموجلوبين أقل من ١٣,٥ غم ذكور وأقل من ١٢,٥ غم اناث. هيماتوكريت أقل من ٤١% ذكور وأقل من ٣٨% إناث.
.٦	قم بالكشف عن وجود فيروسات نقص المناعة المكتسبة والتهاب الكبد الفيروسي و CMV واليرقان في دم المتبرع.	لإستبعاد من تكون نتائج عيناتهم لهذه الفيروسات ايجابية بشكل دائم واستبعاد مخالطيهم بشكل مؤقت من التبرع بالدم.
.٧	أصبغ شريحة دم بصبغة رايت أو ليشمان وتحرى عن وجود طفيل الملاريا (في المناطق الموبوئة بشكل أساس).	لإستبعاد التبرع بالدم بشكل مؤقت (حتى الشفاء) في حالة وجود طفيل الملاريا في دمه.
.٨	قم بإجراء وتجربة VDRL على دم المريض	لإستبعاد المتبرع الذي قد يعاني من السفلس بشكل مؤقت.
.٩	قم بالكشف عن الزمرة الدموية للمريض بناءا على نظام ARO ونظام Rh-Hr.	لنقل دمه الى المرضى الذين تتطابق مجموعاتهم الدموية مع دمه تجنبا لحدوث مضاعفات.
.١٠	حول المتبرع الى الطبيب لإجراء الفحص السريري.	للتأكد من لياقته الصحية بشكل عام وبالتالي قدرته على التبرع بالدم لتوثيقها في السجلات والرجوع إليها عند الحاجة.
.١١	دون معلومات جميع الإجراءات السابقة في بطاقة المتبرع قبل الشروع في سحب دمه.	لتوثيقها في السجلات والرجوع إليها عند الحاجة.
.١٢	وقع على صحة جميع المعلومات المدونة في الإستمارة.	لتحمل المسؤوليات عند الحاجة.

١٣.	نظف الأجهزة والأدوات اللازمة لإجراء الخطوات ٥ – ٩ ومواقع إجرائها وأعد المواد والأدوات الى أماكن حفظها.	استعداد لتنفيذ تجارب جديدة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ملاحظة: يمكن إجراء الخطوات ٦-٧-٨ على عينات من دم المتبرعين بعد سحب وحدة الدم.

الكفايـــة العمليـــة -١٢٦-

سحب الدم من المتبرعين والتعامل مع ردود أفعالهم

الـــهدف :

أن يكون الطالب قـــادرا علـــى ســـحب وحـــدات الـــدم مـــن المتـــبرعين وتوثيقـــها فـــي الســـجلات بعـــد أن يكـــون قـــد ثبـــت علـــى حقائبـــها الرقـــم المتسلســـــل للمتـــــبرع ومجموعتـــه الدمويـــة والتـــاريخ وأن يكـــون قـــادرا علـــى التعـــامل بشـــكل صحـــــي وسليم مع كافـــة المضاعفـــات التـــي قـــد يتعـــرض لـــها المتـــبرع أثنـــاء ســـحب الـــدم أو بعده مباشـــرة.

المبـــدأ :

يكلف فنـــي متمـــرس بســـحب الـــدم مـــن المتـــبرعين وخاصـــة صغـــار الســـن منـــهم أو في حالـــة أول تـــبرع للـــدم بعـــد توفـــير كافـــة وســـائل الراحـــة النفســـية والبدنيـــة في مكان جيـــد الإضـــاءة والتهويـــة.

الأجـــهزة والأدوات والمـــواد اللازمـــة :

- سـرير مناســب لإســـــتلقاء المتـــبرع عليه أثناء ســـحب الـــدم.
- قطن مبلـــل بـــالكحول
- أشرطة لاصقـــة
- جهاز مزج وحـــدات الـــدم
- عصير فواكــــه
- حقـــائب مناســـبة لجمـــع الـــدم مزودة بأجهزة ســـحب الـــدم.
- بطاقـــات حقـــائب جمـــع الـــدم اللاصقـــة بـــالوان تناســـب مختلـــف المجموعـــات الدمويـــة.
- أنـــابيب إختبـــار زجاجيـــة ١٠×١١٠
- قـــاطع كـــهربائي للأنـــابيب البلاســـتيكية

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اســتقبل المتـــبرع بعـــد ملـــئ بطاقتـــه بالمعلومـــات اللازمـــة ببشاشـــة وصـــدر رحـــب.	لغـــرس الثقـــة فـــي نفســـه وتعزيز رغبته فـــي التـــبرع.
.٢	قـــم بقـــراءة كافـــة المعلومـــات المدونـــة في بطاقة المتـــبرع.	للتـــأكد مـــن اســـتكمالها ومـــن اللياقة الصحيـــة للمتـــبرع.
.٣	قم بإختيـــار حقيبـــة الـــدم المناســـبة بعـــد التـــأكد مـــن صلاحيـــة وثبـــت عليـــها بطاقـــة لاصقـــة بلـــون يناســـب	لأنـــه يتـــم اختيـــار الحقيبـــة أحاديـــة الحجـــرات عنـــد الحاجـــة للـــدم كـــاملا ومتعـــددة

	المجموعة الدموية للمتبرع مدون عليها الرقم المتسلسل للمتبرع وتاريخ السحب حيث يختص اللون الأصفر بـ A والأخضر بـ B والأزرق بـ AB والأحمر بـ O واللون الغامق بـ Rh+ve والباهت بـ Rh-ve.	الحجرات عند الحاجة لفصل مكونات الدم عن بعضها تستخدم بطاقات الحقائب في التعرف عليها.
٤.	أطلب ببشاشة وهدوء من المتبرع الاستلقاء فوق سرير التبرع بحيث يكون مستوى قدميه أعلى من مستوى رأسه.	لتوفير الراحة النفسية والبدنية للمتبرع وخاصة صغير السن أو أول تبرع بالدم ولتجنب بعض المضاعفات المحتملة عن طريق توفير أكبر كمية من الدم للدماغ.
٥.	ضع حقيبة الدم فوق جهاز مزج الدم وقم بإحداث الإختراق الوريدي داخل المرفق بعيدا عن مواقع تليف الجلد أو تقرحه بعد التأكد من عدم وجود آثار أبر متكررة في الذراع.	للسماح بملئ الحقيبة بالدم ومزجه بشكل تدريجي ولأنه يجب استبعاد التبرع من مدمني المخدرات.
٦.	أنزع الحزام الضاغط عن ذراع المتبرع بعد تثبيت الإبرة في موقعها بواسطة شريط لاصق وراقب المتبرع أثناء عملية التبرع.	للتأكد من بقائها في موقعها وتسريع تدفق الدم الى الحقيبة وإتخاذ الإجراءات المناسبة في حالة معاناة المتبرع لأية مضاعفات أثناء وبعد التبرع مباشرة.
٧.	توقف عن سحب الدم من المتبرع وقم باتخاذ أي من الإجراءات التالية عند تعرض المتبرع لأية مضاعفات: أ. إرفع مستوى قدمي المتبرع عن مستوى رأسه وضع كمادات ماء بارد على جبهت المتبرع.	لتوفير اكبر كمية من الدم للدماغ لمعالجة تعرض المتبرع للتباطؤ في دقات القلب والغثيان وفقدان الوعي.
	ب. ضع قطعة من الشاش بين أسنان المتبرع وثبت اللسان بواسطة طاقته بعد أن يستلقي على ظهره ورفع مستوى قدميه عن مستوى ظهره.	لوقاية المتبرع من قطع لسانه وللمحافظة على الهواء سالكا ولتوفير أكبر كمية من الدم للدماغ لمعالجة التباطؤ في دقات

		القلب والتشنج بسبب ضحول النظام العصبي المركزي وفقدان الوعي.
	جـ. ضع قناعا ورقيا على أنف المتبرع.	لأنقاص التهوية في حالة تعرض المتبرع للقلق وتصلب عضلات الأطراف.
	د. إستدع الطبيب وقم بإجراءات التنفس الصناعي وتدليك القلب.	لمعالجة فقدان الوعي إذا استمر أكثر من نصف ساعة او اذا كانت اي من المضاعفات السابقة شديدة وحادة.
٨.	دون جميع مضاعفات التبرع والإجراءات المنجزة لمعالجتها في بطاقة المتبرع ومن ثم سجل المتبرعين	لتوثيقها والرجوع اليها عند الحاجة.
٩.	إسحب الإبرة من ذراع المتبرع بعد إمتلاء الحقيبة بالدم وثبت قطنة أو قطعة شاش مبللة بالكحول فوق موقع الأختراق بشريط لاصق.	لمنع النزف والنزف بعد إكتمال عملية التبرع.
١٠.	أطلب من المتبرع البقاء مستلقيا على ظهره خمسة دقائق بعد التبرع بالدم.	تجنبا لتعرضه للغثيان أو الدوار في حالة وقوفه بعد التبرع مباشرة.
١١.	زود المتبرع بعبوة عصير فواكه ودعه يشربها وهو مستلق على ظهره.	لتعويض حجم الدم المفقود أثناء التبرع.
١٢.	زود المتبرع بالوثائق والتعليمات المناسبة.	للتقيد بها لتجنب مضاعفات نشاطاته المهنية.
١٣.	أملأ أنبوبة ١١٠×١٠ ملم بالدم من حقيبة الدم قبل إغلاقها.	للحصول على عينة من دم المتبرع للفحوص المختبرية اللاحقة AIDS VDRL التهاب كبد ... الخ.
١٤.	اقسم أنبوبة البلاستيك الخاصة بجهاز سحب الدم الى أجزاء طول الواحد منها ١٠ – ١٥ سم بإستخدام القاطع الكهربائي أو ربط عقد في الأنبوب البلاستيكي.	لإستخدام محتويات أي جزء منها في عمليات موافقة دم المتبرع مع المريض قبل نقل الدم.

الكفاية العملية -١٢٧-

فصل مكونات الدم عن بعضها

Hemopheresis

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على فصل مكونات الدم (الخلايا الحمراء والبيضاء والصفائح والبلازما والراسب البارد) عن بعضها باستخدام قوى الطرد المركزي والحقائب متعددة الحجرات.

المبدأ :

تفصل مكونات الدم عن بعضها كي يستفيد أكبر عدد ممكن من المرضى من وحدة الدم كل حسب حاجته ولوقايتهم من مضاعفات حصولهم على مكونات الدم عن بعضها خلال ٤ ساعات من سحب الدم التي لا يحتاجونها، يستخدم الطرد التدريجي للكثافة والحقائب متعددة الحجرات لفصل مكونات الدم.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- مجمد كهربائي بدرجة حرارة تقل عن ٣٠م تحت الصفر.
- ثلاجة حفظ الدم بدرجة ٤ – ٨°م
- حجرة فصل المكونات معقمة بالأشعة فوق البنفسجية.
- مكبس خاص.
- حقائب متعددة الحجرات.
- قاطع كهربائي لإقفال الأنابيب البلاستيكية وقطعها.
- أجهزة طرد مركزي بجيوب سعة ١ لتر ومزودة بالإضافة الى ساعة التوقيت ومنظم السرعات ومنظم لتثبيت درجة الحرارة.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	أسحب دم المتبرع في الحجرة الرئيسية لحقيبة متعددة الحجرات بعد تثبيت رقم المتبرع ومجموعته الدموية والتاريخ على جميع الحجرات.	لتوزيع مكونات الدم على الحجرات المختلفة دون تعرضها للتلوث ولتحديد هوية المتبرع ومجموعته الدموية وعمر الدم.
.٢	عرض الحقيبة متعددة الحجرات بعد سحب الدم في الحجرة الرئيسية للطرد المركزي بسرعة ٥٠٠٠ج/د لمدة ٥ دقائق بعد موازنتها بما يعادل وزنها في الجيب المقابل بأقراص مطاطية.	لترسيب الخلايا الحمراء والحصول على طافي البلازما الغني بالخلايا البيضاء والصفائح الدموية.

٣.	في حجرة الأشعة فوق البنفسجية أضغط بالمكبس المناسب الحجرة الرئيسية بدون خلط محتوياتها بعد فتح الطريق الى الحجرة المجاورة.	لنقل البلازما الغنية بالخلايا البيضاء والصفائح الى الحجرة المجاورة في جو كامل التعقيم.
٤.	أفصل الحجرة الرئيسية التي تحتوي على الخلايا الحمراء المكدسة باستخدام القاطع الكهربائي.	لإعطائها بعد تعليقها فيما يعادل حجمها من المحلول الملحي للمرضى الذي يعانون من فقر دم أو حساسية للخلايا البيضاء.
٥.	عرض حجرة البلازما الغنية بالخلايا البيضاء والصفائح الدموية مع بقية الحجرات للطرد بمركز المركزي بسرعة ٥٠٠٠ ج/د لمدة ٧ دقائق بعد موازنتها في الجيب المقابل بأقراص مطاطية.	لترسيب الخلايا البيضاء وفصلها عن البلازما الغنية بالصفائح الدموية.
٦.	نفذ الخطوة رقم ٣.	لنقل البلازما الغنية بالصفائح الى الحجرة المجاورة.
٧.	أفصل الحجرة التي تحتوي على راسب الخلايا البيضاء عن بقية الحجرات باستخدام القاطع الكهربائي	لإعطائها لمن يعاني من نقص في عدد الخلايا البيضاء المحببة بمعدل ١٠''خلية / يوم لمدة ٥ أيام.
٨.	عرض حجرة البلازما الغنية بالصفائح الدموية مع بقية الحجرات للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ ج/د لمدة ٢٥ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة بعد موازنتها الجيب المقابل بأقراص مطاطية.	لترسيب الصفائح الدموية وفصلها عن البلازما الطازجة.
٩.	أفصل الحجرة التي تحتوي على راسب الصفائح الدموية عن الحجرة التي تحتوي على البلازما الطازجة باستخدام القاطع الكهربائي.	لإعطاء الصفائح الدموية بعد تجميعها لمن يعاني من نقصها وحفظ البلازما الطازجة مجمدة (FFP) بدرجة ٣٠ م تحت الصفر لمدة عام.
١٠.	ضع حقيبة البلازما الطازجة المجمدة في درجة ٤°م (ثلاجة بنك الدم) لمدة ١٨ساعات.	لتمييع مكوناتها باستثناء الراسب البارد الغني بالعامل الثامن.
١١.	عرض حجرة البلازما الطازجة	لترسيب الراسب البارد

	المجمـدة المميعـة بدرجـة ٤° للطـرد المركـزي بسـرعة ٢٥٠٠ د/د لمـدة ١٥ دقيقـة بعـد موازنتـها فيمـا يعـادل وزنها بـالأقراص المطاطيـة.	وفصله عن بقيـة البلازمـا.
.١٢	نفذ الخطـوة رقـم ٣.	لنقـل البلازمـا الخاليـة مـن الراسـب البـارد الـى الحجـرة المجـاورة.
.١٣	أفصـل حجـرة الراسـب البـارد عـن حجـرة البلازمـا الخاليـة مـن الراسـب البـارد.	لإعطاء الراسـب البـارد وبعـد تجميعـه لمـن يعـاني مـن نقـص عـامل التجلـط رقـم ٨ واعطاء البلازمـا لمـن يعـاني فـي نقـص حجـم الـدم كـالحروق...).

الكفايـــة العمليـــة -١٢٨-

الكشف عن المجموعة الدموية في نظام ABO بالطريقة المباشرة باستخدام الشرائح الزجاجية او انابيب الاختبار

Direct ABO blood grouping

الـــهدف :

ان يكــون الطــالب قــادرا علــى الكشـــف عـــن المجموعـــة الدمويـــة فـــي نظـــام ABO بالطريقـــة المباشـــرة.

المبـــدأ :

تتفاعل الأجسام المضادة Anti-A و itnAB- ايلاخلا حطسي ف ةدوجوملا اهتناجيتنا ـــعم الحمراء في المحلول الملحي وتكتلها بشكل قوي بحيث يشاهد التكتل بالعين المجــودة دون الحاجة للطرد المركزي والمجهر لأنها أجسام مضادة طبيعية وكاملـــة (IgM) وتتـــوزع انتيجيناتها في جدران الخلايا الحمراء على هيئة مجموعات سطحية.

الأجـــهزة والأدوات والمـــواد اللازمـــة :

- امصـــال تحتـــوي علـــى Anti-A وامصـــال تحتـــوي علـــى Anti-B .
- شـــرائح زجاجيـــة او انـــابيب اختبـــار ١١٠×١٠ملـــم
- عيدان خشـــبية
- قطـــارات
- اقلام تعليـــم (وســـم)

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امـــزج قطـــرة مـــــن دم المريـــض او محلـــول ٢٠% خلايـــا حمـــــراء مـــع قطـــرة مصـــل Anti A فـــي انبـــوب ١١٠×١٠ملـــم ممـــيز بـــالحرف A او علـــى نصـــف ســـطح شـــريحة زجاجيـــة ممـــيز بـــالحرف A وامـــزج قطـــرة اخـــرى مـــن الـــدم او محلـــول الخلايـــا الحمراء مـــع قطـــرة مـــن مصـــل Anti B فـــي انبـــوب ١١٠×١٠ملـــم ممـــيز بـــالحرف B او النصـــف الاخـــر مـــن ســـطح الشـــريحة الممـــيز بـــالحرف B في درجة حـــرارة الغرفـــة.	لاتاحـــة الفرصـــة لحـــدوث تفـــاعل مصلـــي بيـــن الانتيجينـــات A و B المتوقع وجودهـــا فـــي ســـطح الخلايـــا الحمـــراء مـــع اجسامها المضـــادة.

٢.	اكشف بالعين المجردة عن امكانية حدوث التكتل في الانبوبتين او في نصفي الشريحة.	للتعرف على امكانية حدوث تفاعل مصلي بين انتيجينات الخلايا الحمراء واجسامها المضادة وبالتالي المجموعة الدموية للمريض التي قد تكون كما يلي: • A اذا حدث التكتل في الانبوب A او نصف الشريحة A. • B اذا حدث التكتل في الانبوب B او نصف الشريحة B. • AB اذا حدث التكتل في الانبوبتين اوفي نصفي الشريحة. • O اذا لم يحدث التكتل في الانبوبتين اوفي نصفي الشريحة.
٣.	نظف الادوات الزجاجية واعد الامصال الى الثلاجة ونظف الموقع.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايــــة العمليـــــة -١٢٩-

الكشف عن المجموعة الدموية في نظام ABO بالطريقة غير المباشرة.

Indirect or Reverse ABO blood grouping

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى الكشـــف عـــن المجموعـــة الدمويـــة فـــي عينـــات المصـــل او البلازمـــا.

المبـــدأ :

تتميز الأجسام المضادة Anti-A وAnti-B امزلابـ يـف رهظت(تيعيبط تداضم ماسجأ اهنأبـ الانسان في حالة غياب انتيجيناتها) وباردة وكاملة لذا تستخدم محاليل الخلايا الحمـــراء A وB في الكشف عن وجودها في امصال المرضى وبالتالي معرفة مجموعاتهم الدموية فـــي نظام ABO.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- ٢٠% محلـــول خلايـــا حمـــراء مـــن المجموعـــة الدمويـــة B فـــــي المحلـــــول الملحـــي.
- ٢٠% محلـــول خلايـــا حمـــراء مـــن المجموعـــة الدمويـــة A فـــــي المحلـــــول الملحي بحيث يحضـــــر مـــن خمســـة اشـــخاص A
- انابيب اختبـــــار ١١٠×١٠ملـــم نظيفـــة وجافـــة.
- قطـــارات

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	امـــزج قطرتيـــن مـــن بلازمـــــا او مصـــل المريـــض مـــع قطـــرة مـــن محلـــول ٢٠% خلايـــا حمـــــراء A فـــي الانبـــوب المميـــز بـــالحرف A و قطرتيـــن مـــن بلازمـــا او مصـــل المريض مـــع قطـــرة مـــن محلـــول ٢٠% خلايـــا حمـــــراء B فـــــي الانبوب المميـــــز بـــالحرف B.	لاتاحـــة الفرصـــة لحـــدوث تفـــاعل مصلـــي بيـــن الاجســـام المضـــــادة الموجـــودة فـــي بلازمـــا او مصـــل المريـــض مـــع الانتيجينـــــات Aو B الموجـــــودة فـــــي الخلايـــــا الحمراء المضافـــة لـــها.
.٢	ابحـــث عـــن حـــدوث تكتـــل فـــــي الانبوبتين بــــالعين المجـــردة .	للتعـــرف علـــى حـــدوث تفـــــاعل مصلـــــي وبالتـــــالي المجموعـــــة

		الدموية للمريض والتي تكون كما يلي: • A اذا حدث التفاعل في الانبوب -B. • B اذا حدث التفاعل في الانبوب -A. • AB اذا لم يحدث تفاعل مصلي في الانبوبتين. • O اذا حدث تفاعل مصلي في الانبوبتين.
٣.	نظف الادوات الزجاجية والموقع واعد محلول الخلايا الحمراء الى الثلاجة.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٣٠-

تصنيف عينات الدم بـ Rh-ve و Rh+ve بالكشف عن الانتجين Rh(D) الطبيعي و Rhu (Du) الضعيف

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن الانتيجينات Rh(D) و Rhu (Du) في سطح الخلايا الحمراء.

المبدأ :

يضيف الدم بـ Rh +ve في حالة وجود أي من الأنتيجينات في جدران الخلايا الحمراء، وبـ Rh-ve في حالة غياب عن هذه الانتيجينات. يجب عدم استبعاد تكتل الخلايا الحمراء عند الكشف عن هذه الانتيجينات إلا بعد الاستعانة بالطرد المركزي والمجهر على التوالي لأنها تنتشر مبعثرة في عمق جدران الخلايا الحمراء ولأن وأجسامها المضادة غير كاملة ودافئة وغير طبيعية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- انابيب اختبار ١٠×١١٠ملم نظيفة وجافة.
- قطارات زجاجية
- شرائح زجاجية واغطيتها.
- جهاز طرد مركزي.
- حمام مائي بدرجة ٣٧م.
- مصل كومب.
- محلول ملحي فسيولوجي (N.S)
- مجهر مزود بعدسات شيئية ١٠و٤٠

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج قطرة من دم المريض مع قطرتين من المصل الذي يحتوي على الاجسام المضادة Anti Rh (D) وضعها في حمام مائي بدرجة ٣٧م لنصف ساعة.	لاتاحة الفرصة لتفاعل الاجسام المضادة Anti Rh(D) التي تتميز بأنها غير كاملة ودافئة للتفاعل مع الانتجين الموجود في سطح الخلايا الحمراء.
٢.	اكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء داخل الانبوب مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة الخلايا الحمراء على التكتل ورؤية التكتل الضعيف في حالة وجوده لأن التفاعل المصلي الخاص بأنتجين Rh ضعيف مقارنة بتفاعل انتيجينات A,B

.٣	صنف الدم Rh+ve عند رؤية التكتل وصنفه بشكل مبدئي Rh-ve عند عدم رؤية التكتل وقم بغسل الخلايا الحمراء الموجودة في الانبوب ثلاث مرات بالمحلول الملحي.	للتخلص من أي اثر للبلازما ومصل Anti Rh الذي استخدم في الخطوة الاولى تمهيدا للكشف عن Rhu(Du) الضعيف.
.٤	امزج قطرة من مصل كومب (AHG) مع الخلايا الحمراء التي تم غسلها بالمحلول الملحي في الخطوة السابقة.	للربط بين الاجسام المضادة AntiRh المرتبطة بالانتيجينات Rhu الضعيفة في حالة وجودها في سطح الخلايا الحمراء والمساعدة على تكتلها.
.٥	اكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	للتعرف على امكانية وجود الانتيجين Rhu(Du) الضعيف.
.٦	صنف الدم Rhu(Du) في حالة تكتل الخلايا الحمراء في الخطوة السابقة و Rh-ve بشكل مؤكد في حالة عدم ظهور تكتل.	لانه لا يجوز تصنيف الدم Rh-ve الا بعد استبعاد الانتيجين الضعيف .Rhu(Du)
.٧	نفذ جميع الخطوات السابقة على عينتي دم مرجعيتين مصنفات Rh+ve وRh-ve.	لمقارنة توزيع خلاياهما في الخطوات المختلفة مع توزيع خلايا العينة.
.٨	افصل التيار الكهربائي عن المجهر والحمام المائي ونظف الانابيب واعد الامصال الى الثلاجة ونظف موقع العمل بعد اعتماد النتائج.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٣١-

الكشف عن أنتيجيات EoC و eoc في نظام Rh-Hr (Genotyping)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف عن انتيجينات E,C و c و e لمعرفة ما إذا كانت العوامل الوراثية للأنتيجن D الخاص بالرجل المتزوج من إمرأة مصنفة (Rh-ve) متجانسة DD أو غير متجانسة ولمعرفة مدى توفر فرص تعرض الأجنة لفقر الدم التحللي لحديثي الولادة (NBDH).

المبدأ :

نظرا لعدم وجود ما يشار له بأنتيجن d وبالتالي عدم توفر أجسامه المضادة فيمكن تقرير تجانس أو عدم تجانس العوامل الوراثية للانتيجين D من نتائج الكشف عن الإنتيجينات e,c,E,C بمساعدة الجداول الخاصة باحتمالية تجانس العوامل الوراثية للأنتيجين D (DD) أو عدم تجانسها (Dd) كما تستخدم نتائج الكشف عن الانتيجنات e,c,E,C في دم الزوجين حتى لو كانا Rh+ve و Rh-ve لاستبعاد أجسامها المضادة في حالة تحلل دم الجنين.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- قطارات أو ماصات باستور (Pasteur).
- أنابيب اختبار مصلبة ١١٠×١٠ملم
- حمام مائي بدرجة ٣٧°م
- أمصال الأجسام المضادة للأنتيجنات c,c,E,C^w,D الخاصة بنظام Rh-Hr
- حوامل أنابيب اختيار ١١٠×١٠ سعة ٥×١٠ = ٥٠
- معلقات خلايا حمراء مرجعية (بعضها يحمل الإنتيجينات والبعض الاخر خال منها).

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر معلق خلايا حمراء من عينة المريض وبتركيز ٢٠% بعد غسلها بالمحلول الملحي ثلاث مرات.	لمفاعلته مع أمصال الأجسام المضادة للأنتيجينات D و $C+C^w$ و E و c وe.
٢.	ميز خمسة أنابيب ١١٠ × ١٠ ملم بالحروف e,c,E,C,D وضع في كل	لإتاحة فرصة التفاعل بين الإنتيجنات المحتمل وجودها خلايا المريض مع الأجسام

	منها قطرة مما يناسبها من إمصال الأجسام المضادة Anti e, Anti c, Anti E, Anti C, Anti D.	المضادة.
٣.	أكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء داخل الأنابيب مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة الخلايا الحمراء على التكتل ومشاهدة التكتل الضعيف في حالة وجوده لأن تفاعل انتيجينات نظامRh-Hr ضعيفة بالمقارنة مع تفاعل إنتيجناتAB.
٤.	قم بتنفيذ الخطوات ٢ و ٣ على مجموعة المعلقات المرجعية الموجبة والسالبة في نفس وقت تنفيذها على معلق العينة.	للتأكد من صلاحية الأمصال المستخدمة.
٥.	وفق بين نتائج التجربة السابقة وجداول امكانية تجانس العوامل الوراثية للأنتيجين D (DD) أو عدم تجانسها (Dd).	لأقرار النسبة المئوية لإحتمال تجانس الأنتيجينD أو عدم تجانسه وبالتالي مدى إمكانية تعرض دم الجنين لتحلل الدم.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليــــة -١٣٢-

تحضير معلق (محلول الخلايا الحمراء)

الـــهدف :

ان يكـون الطــالب قــادرا علــى تحضـيـر محلـول (معلــق) الخلايـــا الحمـــراء بتراكيز مختلفـــة لاســتخدامها ككواشــف مخبريــة .

المبــدأ :

تحضـــر معلقــات الخلايـــا الحمــراء بتراكــيز مختلفــة بعــد غســـلها بـــالمحلول الملحـــي (NS) ثــلاث مــرات باســتخدام الطـــرد المركــــزي وانـــابيب طـــرد مركزي مدرجـــة.

الأجــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- جهاز طـــرد مركـــزي
- انابيب طـــرد مركـــزي مدرجـــة
- محلــول ملحـــي فســـيولوجي (N.S)
- قطارات او محـــاقن عنـــد اللـــزوم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	عــرض عينـــة الــدم المجموعـــة علـــى مانع تجلـــط مناســب للطـــرد المركـــزي بســـرعة ٢٠٠٠د/د لمـــدة ٣ دقـــائق فـــي أنابيب طـــرد مركـــزي مدرجـــة .	لفصــل البلازمـــا عـــن الخلايـــا الحمراء المكدســـة.
٢.	افصل البلازمـــا وامـــلأ انبــوب الطـــرد المركـــزي بـــالمحلول الملحـــي وامزجـــه بالخلايـــا الحمـــراء المكدســـة ومـــن ثـــم عرضـــه للطـــرد المركــــزي بســـــرعة ٢٠٠٠ د/د لمـــــدة ثلاثـــــة دقـــــائق وتخلص مـــن الطـــافي الصـــافي .	للتخلص ممـــا تبقـــى مـــن بلازمـــا بين الخلايـــا الحمـــراء المكدســـة.
٣.	اعد الخطـــوة رقـــم (٢) مرتيـــن .	لضمـــان عـــدم بقـــاء أي اثـــر للبلازمـــا او مكوناتـــها فـــي انبوب الطـــرد المركـــزي.
٤.	اضف الـــى الخلايـــا الحمـــراء المكدســـة محلـــول ملحـــي بالنســـب التاليـــة عنـــد الحاجة وامزجه معــــها جيــدا: • تسعة اضعـــاف حجمـــها.	للحصول على محاليل الخلايا الحمراء بالنسب التالية: • للحصول على ١٠% محلول

	• اربعة اضعـــاف حجمـــها. • ثلاثة اضعـــاف حجمـــها. • ضعف حجمــــها. • نفس حجمـــــها .	خلايا حمراء • للحصول على ٢٠% محلول خلايا حمراء. • للحصول على ٢٥% محلول خلايا حمراء. • للحصول على ٣٣,٣% محلول خلايا حمراء. • للحصول على ٥٠% محلول خلايا حمراء.
٥.	انقـــل معلـــق الخلايـــا الحمـــراء إلـــــى زجاجات مقفلــــة بقطـــارات .	لحفظه واستخدامه عند الحاجة خلال أيام بدرجة ٤م .
٦.	نظـــف الأدوات ومكـــان العمـــل وأعــــــد الأدوات والمواد إلـــى أمـــاكن حفظـــها.	استعدادا لتحضير معلقات خلايا حمراء أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة .

الكفايـــة العمليـــة -١٣٣-

تحضير معلق الخلايا الليمفاوية بطريقة فيكول وهايباكو

(Ficoli-Hypaque)

الـــهدف :

أن يكـون الطـالب قـادرا علـى تحضـير معلـق خلايـا ليمفاويـــة لاســـتخدامه كعينـات فـي الكشـف عـن انتيجينـــات الخلايـــا البيضـــاء الأدميـــة (HLA) Human Laucoytic Antigens. الـت تشـكل أسـاس الموافقـة النســـيجية.

المبـدأ :

تعتمد طريقة فيكـول – هايبـاكو لفصـل الخلايـا الليمفاويـة عـن بقيـة عينـة الـدم بتعريضـها للتـدرج الطـردي فـي الكثافـة النوعيـة فـي محلـــول مـــتريزوات الصوديـوم Na-Metrizoate الـذي كثافتـــه النوعيـــة ١,٠٧٧ حيـث تكـدس الخلايـا الليمفاويـة وخلايـا وحيـدات النـواة علـى شـكل قـرص فــي ســطح التمـاس بيـن الراسـب مـن مـتريزوات الصوديـوم فـي الأسـفل والطـافي فـي الأعلـى. يتـم التخلـص مـن الخلايـا البيضـاء وحيـدة النـواة بواسـطة التصاقـها مع السطوح الزجاجيـة بوجـود مصـل الأنسـان أو مصـل العجـل الرضيـع.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- جهاز طـــرد مركـــزي.
- أنابيب طـــرد مركـــزي
- محلـول مـــتريزوات الصوديـوم كثافتـه النوعيـــة ١,٠٧٧.
- ٢% بوفاين البوميـــن فـي المحلـول الملحـي الخـالي مـن الكالسـيوم (محلـول غسـيل).

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خفف عينة الدم المجموعة على هيبارين خالي من أية مواد حافظة بنسبة ٣:١ بمحلـول ٢% بوفان البومين في المحلول الملحي الخالي مـن الكالسيوم.	لتسهيل ترسيب الخلايا الحمـــراء والمحببات في أسفل الأنبوب.
٢.	أسكب عينة الدم المخففة في طبــق زجـاجي على هزاز واحفظها بدرجة ٣٧°م ساعة.	للتخلص من الخلايا البيضاء أحادية النواة والصفـــائح الدمويـــة التـــي تلتصق بالزجاج
٣.	أترك طبق بتري الزجاجي بدرجــــة حـــرارة الغرفة لمدة ١٠ دقائق ومن ثم أسكب العينـــة المخففة الحالية من الخلايا أحادية النواة فـــوق	- لفصل محتويات الأنبوب الـــى الطبقات التالية من أسفل الـــى أعلـــى حســـب التنــــاقص

	نصف حجمـــها مـــن محلـــول ميـــتريزوات الصوديوم بدون خلطـــها وعرضـــها للطـــرد المركزي بقوة ٤٠٠ج لمدة ٣٠ دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة التـــي حضـــر فيـــها محلـــول متريزوات الصوديوم.	التدريجي في كثافتها النوعية - الخلايا الحمراء والمحببـــات البيضاء. - محلول متريزوات الصوديوم. - قرص الخلايا الليمفاوية - البلازما المخففة.
٤.	أسحب قرص الخلايا الليمفاوية مـــن سـطح التماس بين البلازما المخففـــة وميـــتريزوات الصوديوم بواسطة ماصات باستور وضعـــه في أنبوب طرد مركزي.	لفصل الخلايا الليمفاوية والخلايـــا أحادية النواة عن بقيـــة الطبقـــات لغسلها.
٥.	ضع معلق الخلايا الليمفاوية بدرجة ٣٧°م لمدة ٢-٢٤ ساعة.	لتسهيل عملية تخلص الخلايا ممـــا فـــي ســطوحها مـــن جلوبوليـــن المناعة.
٦.	أغسل الخلايا الليمفاويـــة ٣مـــرات بمحلـــول البوفاين البومين.	للتخلص بشكل كـــامل مـــن آثـــار البلازما ومكوناتها.
٧.	عدل حجم معلق الخلايا الليفاويـــة بمحلـــول الغسيل.	للحصول على معلق عدد الخلايـــا الليمفاوية يساوي ٢ مليون/ملل.
٨.	نظف الأدوات ومكان العمل وتعـــاد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها,	إستعدادا لتحضير معلـــق الخلايـــا الليفاوية من عينات دم أخرى.

الكفاية العملية -١٣٤-

الكشف عن انتيجنات الخلايا البيضاء الآدمية (HLA) بالطرق المصلية

Lymphocytotoxicity Test = LCT أو (Serologicaly Defied = SD)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف عن وجود انتيجينات الخلايا البيضاء الآدمية (HLA) في معلق الخلايا الليمفاوية كأساس لنظام التوافق النسيجي قبل عمليات نقل الأعضاء باستخدام الطرق المصلية (SD) التي تتميز بحساسيتها وفعاليتها.

المبدأ :

تتحسس الخلايا الليمفاوية الحية عند مفاعلتها مع الأجسام المضادة المناسبة لإنتيجينات الخلايا البيضاء التي تحملها. تفقد الخلايا الليفاوية المتحسسة حياتها في حالة مفاعلتها مع المتمم. تستخدم الإضاءة الساطعة في المجهر العادي للتفريق بين الخلايا الليفاوية الحية والميتة التي تتميز عن الحية بامتصاصها للصبغات مثل الأيوسين (Eosin) أو تريبان الزرقاء (Trypan Blue).

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أطباق حجرات شفافة بسعة ٦٠ عينة تحتوي على الأجسام المضاد للإنتيجنات (HLA) مغمورة بزيت البرافين. تحفظ هذه الأطباق مجمدة بدرجة حرارة تقل عن ٧ تحت الصفر.
- معلق خلايا ليمفاوية بتركيز ١-٢ بمليون /ملل.
- مصل أرنب يحتوي على المتمم.
- ٥% محلول الأيوسين في الماء.
- مجهر مزود بالعدسات الشيئية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع أطباق أمصال الأجسام المضادة لأنتيجنات الخلايا البيضاء المجمدة بدرجة حرارة الغرفة.	لتمييع الأمصال داخل الحجرات قبل استخدامها.
٢.	أضف الى كل حجرة ٠,١ وملل من معلق الخلايا الليفاوية الذي تركيزه بعد المزج ١٠٠٠-٢٠٠٠ خلية / ملل دون ملامسة سطح المصل وأترك الأطباق بعد مزج	للعمل على تحسس الخلايا الليمفاوية عن طريق مفاعلة انتيجيناتها (HLA) مع أجسامها المضادة.

	محتويات الحجرات بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة.	
.٣	أضف الى الخليط في كل حجرة ٠,٥ ملل من مصل متمم الأرنب وأحفظها بعد مزج محتويات الحجرات بشكل جيد في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة.	للعمل على قتل الخلايا الليمفاوية المتحسسة عن طريق ارتباط المتمم بالأجسام المضادة المثبتة على سطحها.
.٤	أضف الى الخليط في كل حجرة ٠,٠٠٣ ملل محلول ٥% ايوسين بالماء واتبعها بعد مزج الخلط بدقيقتين بـ ٠,٠٠٨ملل فورمالين وأمزج جيدا.	للسماح بتغلغل صبغة الأيوسين الى داخل الخلايا الليمفاوية الميتة والتي تحمل انتيجينات المصل المضاد.
.٥	أغلق الحجرات بغطائها الشفاف بشكل محكم.	كي نسمح بإنتشار محتويات كل حجرة على شكل طبقة دقيقة متجانسة داخل الحجرات بعد قلب الأطباق بدون انسيابها خارجها.
.٦	تفحص بالعدسة الشيئية ١٠ الخلايا الليمفاوية في جميع الحجرات باستخدام الضوء الساطع بسرعة ٤٠ حجرة في الدقيقة.	للتفريق بين الخلايا الليمفاوية الحية(صغيرة الحجم غير ملونة) والخلايا الليمفاوية الميتة (كبيرة الحجم ملونة).
.٧	أحسب النسبة المئوية للخلايا الميتة في كل حجرة.	لإستخدامها في كتابة النتيجة التي تعتمد كما يلي: - سلبية اذا كانت النسبة <٢٠%. - مشكوك في ايجابيتها اذا كانت النسبة ٢٠ – ٤٠ %. - ايجابية بشكل ضعيف اذا كانت النسبة ٤٠ – ٦٠ %. - ايجابية مؤكدة بشكل ضعيف اذا كانت النسبة ٦٠ – ٨٠%. - ايجابية بشكل قوي اذا كانت النسبة > ٨٠%.
.٨	نظف الأدوات ومكان العمل وتخلص من الحجرات المستخدمة بطريقة صحية أعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا الأجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٣٥-

الكشف عن انتيجينات الخلايا البيضاء الآدمية (HLA) بالطريقة اللمفاوية (LD) = Lymphocyticaly Defined أو Mixed Leucocytic Culture (MLC)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف عن انتيجينات الخلايا البيضاء الادمية (HLA) في معلق الخلايا الليمفاوية كأساس نظام التوافق النسيجي باستخدام كواشف الخلايا الليمفاوية المنشطة.

المبدأ :

تنقسم الخلايا الليمفاوية ويزداد عددها بعد إثارة عملية الانقسام عند حضنها في مزارع نسيجية مع خلايا ليمفاوية منشطة تحمل نفس انتيجينات (HLA). يعبر عن انقسام الخلايا الليفاوية وتكاثرها في المزرعة النسيجية بمدى استهلاك الثايمدين Thymidine.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اطباق مزارع نسيجية تحتوي الواحد منها على ٩٦ حجرة سعة ٣٠٠ – ٤٠٠ ميكل. تحتوي كل حجرة على ٥٠ ميكل من معلق خلايا ليفاوية منشطة تحمل احد انتيجينات (HLA) ومميزة بالميتوجين سي (Mitogen.C).
- وسط زراعة نسيجية.
- ثايمدين مشع (H_3-Thymidine).
- مرشحات الصوف الصخري.
- محلول كولين المطور بمحلول ٥% من مصل العجل الرضيع.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	أضف ٥ ميكل من معلق عينة الخلايا الليمفاوية (١٠٠٠ – ٢٠٠٠ خلية /ملل) الى محتويات كل حجرة من حجرات الطبق التي تحتوي على ٥ ميكل من خلايا ليمفاوية لأحد الإنتيجنات HLA وأمزج جيدا.	كي تقوم الخلايا الليمفاوية المنشطة بتنشيط الخلايا الليمفاوية الخاصة بالعينة والتي تشترك معها بأي من انتيجنات HLA.
.٢	أضف الى خليط الخلايا في كل حجرة ٢٠٠ ميكل من وسط نسيجي وأحفظ الخليط بعد إقفال الحجرات بإحكام ومزج المحتويات بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٥ – ٦ أيام	لإعطاء الفرصة لإنقسام الانقسام الخلايا الليمفاوية في الوسط النسيجي.

.٣	أضف الى الخليط في كل حجرة ما يعادل حوالي ١–٢ ميكروكوري من الثايمدين المشع وأقفل الحجرات بإحكام واترك الخليط لمدة ٦ – ١٨ ساعة.	للسماح للخلايا الليمفاوية المنقسمة والخاصة بالعينة باستيعاب الثايمدين المشع.
.٤	أغسل خليط الخلايا الليمفاوية ٣ مرات بالكولين المطور على مرشحات من الصوف الصخري.	للتخلص من الثمايمدين الحر.
.٥	قم بقياس الثايمدين المشع على الصوف الصخري بواسطة الجاماميتر γ-Meter.	لمعرفة كمية الثايمدين المشع التي تم استيعابها من قبل الخلايا الليمفاوية المنقسمة في العينة والتي تحمل نفس انتيجين معلق الكواشف الليمفاوية.
.٦	نظف الأدوات ومكان العمل وتخلص من الأطباق المستخدمة بطريقة صحية وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

تجربة كومب المباشرة
Direct Coomb's Test

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام مصل AHG (كومب) في الكشف عن وجود الاجسام المضادة غير الكاملة في سطح الخلايا الحمراء.

المبدأ :

تعمل الأجسام المضادة لجاما جلوبولين الانسان (AHG) على ارتباط أجسام المضادة الآدمية غير الكاملة المرتبطة مع انتيجيناتها في سطح الخلايا الحمراء وتكتيلها في المحلول الملحي. تسمى بتجربة كومب المباشرة عندما يستخدم مصل كومب في الكشف عن الأجسام المضادة في سطح الخلايا الحمراء لعينة المريض وغير مباشرة عندما يستخدم مصل في الكشف عن وجود الأجسام المضادة في مصل المريض بعد مفاعلتها مع خلايا حمراء تحمل انتيجيناتها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- انابيب اختبار ١١٠×١٠ ملم نظيفة وجافة.
- محلول ملحي فسيولوجي (N.S).
- مصل كومب (AHG).
- مجهر مزود بعدسات شيئية ١٠ و ٤٠
- قطارات
- شرائح زجاجية واغطيتها.
- جهاز طرد مركزي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اغسل الخلايا الحمراء من عدة نقط من دم المريض بالمحلول الملحي ثلاث مرات.	للتخلص من جميع الاجسام المضادة وبقية جاما جلولوبولين الموجود في البلازما.
٢.	امزج قطرة من محلول ٢٠% خلايا حمراء مغسولة (بالخطوة السابقة) مع قطرتين من مصل كومب في انبوب طرد مركزي ١١٠×١٠.	لاتاحة الفرصة لمصل كومب بالتفاعل مع الاجسام المضادة غير الكاملة المتحدة مع انتيجيناتها في الخلايا الحمراء وبالتالي تكتلها.
٣.	اكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة مصل كومب في ربط الخلايا الحمراء مع بعضها وتمييز التكتل الذي قد يرى بالعين المجردة.
٤.	اعتبر نتيجة التجربة ايجابية Positive Direct Coomb's Test	بسبب حدوث تكتل بعد اضافة مصل كومب لخلايا المريض الحمراء بعد غسلها.

٥.	نظف الانابيب وافصل التيار عن المجهر واعد مصل كومب الى الثلاجة ونظف الموقع.	تمهيدا لاعادة التجربة عند الحاجة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة .

الكفايـــة العمليـــة -١٣٧-

تجربة كومب غير المباشرة (Indirect Coomb's Test) للكشف عن الأجسام المضادة Anti Rh في مصل المريض

الـــهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن وجود الاجسام المضادة غير الكاملـــة لأي مـــن انتيجينات الخلايا الحمراء (مثلا Rh (D)) في مصل المريض باستخدام مصـــل كومـــب (AHG) .

المبـــدأ :

يتم الكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة Anti– Rh (D) في ا ـــهتوة سـايقو مصل الحوامل المصنفات بـ Rh-ve بمفاعلة امصالهن مع معلق خلايا حمـــراء O+ve ومفاعلة الخلايا الحمراء بعد غسلها ثلاث مرات بالمحلول الملحي مع مصل كومب : يعمل مصل كومب في حالة وجود الأجسام المضادة في مصل المريض على التفـاعل مـــع مـــا ارتبط منها مع الانتيجين D في الخلايا الحمراء O+ve وبكتلها .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- ٢٠% محلـول خلايـا حمـــراء مـــن المجموعـــة الدمويـــة O تحمـــل الانتيجيـــن Rh (O+ve)
- مصـــل كومـــب (AHG).
- قطـــارات زجاجيـــة.
- محلـــول ملحـــي فســـيولوجي (N.S) .
- حمام مـــائي بدرجـــة ٣٧م.
- جهاز طـــرد مركـــزي.
- مجـــهر مـــزود بالعدســـات الشـــيئية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.
- انابيب طـــرد مركـــزي ١١٠ × ١٠ملـــم نظيفـــة وجافـــة.
- شـــرائح زجاجيـــة واغطيتـــها.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امـــزج قطرتيـــن مـــن مصـــل المريـــض المصنـــف Rh-ve مـــع قطـــرة مـــن ٢٠% محلـــول خلايـــا حمراء O+ve فـــي انبـــوب طـــرد مركـــزي ١١٠×١٠ وضعـــها فـــي	لاتاحـــة الفرصـــة لتفـــاعلات الاجســـام المضـــادة الدافئـــة وغـــير الكاملـــة المحتمـــل وجودهـــا فـــي مصـــل المريـــض للتفـــاعل مـــع الانتيجيـــن Rh الخـــاص بالخلايـــا

	حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة نصف ساعة على الاقل.	الحمراء O+ve .
٢.	اغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي ثلاث مرات في حالة عدم ملاحظة تكتل بعد الاستعانة بالمجهر والطرد المركزي.	لانه ينـدر تكتل الخلايا الحمراء في هذه الحالة لان الاجسام المضادة للانتجين Rh غير كاملة وتغسل الخلايا الحمراء للتخلص من أي اثر لجاماجلوبولين مصل المريض.
٣.	امزج الخلايا الحمراء التي تم غسلها في الخطوة السابقة مع قطرة من مصل كومب .	للمساعدة على ربط الاجسام المضادة المتحدة مع الانتيجين Rh في الخلايا الحمراء O+ve مع بعضها وبالتالي تكتل الخلايا الحمراء.
٤.	اكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة مصل كومب على الربط بين الأجسام المضادة في سطح الخلايا الحمراء ولتمييز التكتل الضعيف الذي لا يرى بالعين المجردة .
٥.	اعتبر نتيجة تجربة كومب غير المباشرة ايجابية مما يؤكد وجود الأجسام المضادة -Anti D في مصل الأمهات المصنفات بـ Rh-ve.	بسبب تكتل الخلايا الحمراء O+ve بعد إضافة مصل كومب.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل واعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها .	استعداد لاجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة .

الكفايـــة العمليـــة -١٣٨-

تجربة الموافقة الكبرى والصغرى

Major & Minor crossmatching (Compatibility)

الـــهدف :

ان يكون الطـــالب قـــادرا علـــى القيـــام بتجربـــة الموافقـــة الكـــبرى والصغـــرى بيـــن دم المتـــبرع والمريـــض.

المبـــدأ :

تستخدم الموافقة الكبرى لاستبعاد أية أجسام مضادة غير متوقعة لانتيجينات الخلايا الحمراء الخاصة بالمتبرع من مصل المريض في حين تستخدم الموافقة الصغرى في أســتبعاد أيــة اجسام مضادة غير متوقعة لانتيجينات الخلايا الحمراء الخاصـــة بـــالمريض مـــن مصـــل المتبرع.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- انـــابيب طـــرد مركـــزي ١١٠ × ١٠ملـــم
- قطـــارات
- شرائح زجاجيـــة واغطيتـــها
- حمام مـــائي بدرجـــة ٣٧م
- جهاز طـــرد مركـــزي
- مجـــهر مـــزود بالعدســـــات الشـــيئية ١٠ و٤٠ و ١٠٠
- محلـــول ملحـــي فســـيولوجي (N.S)
- مصـــــل كومـــــب (AHG) والبوفـــــاين البوميـــن.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	عـــرض عينـــة دم المريـــــض (P) والمتـــبرع (D) للطـــرد المركـــزي بســـرعة ٢٠٠٠د/د لمـــدة ثـــلاث دقـــائق.	لفصـــل الخلايـــا الحمـــراء لكـــل مـــن المريـــض والمتـــبرع عـــن امصالـــها (او البلازمـــا).
٢.	اغســـل الخلايـــا الحمـــراء لكـــل مـــن المريـــــض (P) والمتـــــبرع (D) بـــالمحلول الملحـــي ثـــلاث مـــرات وحضـــر محاليلـــها بتركـــيز ٢٠%.	للتخلـــص مـــن أي اثـــر للبلازمـــا او المصـــل الخـــاص بكـــل مـــن المريـــض (P) والمتـــبرع (D) .
٣.	امـــزج قطرتيـــن مـــن مصـــل المريـــض (P) مـــع قطـــرة مـــن ٢٠% خلايـــا حمـــراء المتـــبرع (D) فـــي الانبوبـــة المميـــزة بـــالرقم (١) للموافقـــة الكـــبرى	لاتاحـــة الفرصـــة لأي نـــوع مـــن الاجســـام المضـــادة غـــير الكاملة يمكـــن ان يتواجـــد فـــي المصـــل للتفـــاعل مـــع

	وامزج قطرتين من مصل المتبرع (P) مع قطرة من ٢٠% خلايا حمراء المريض (P) في الانبوبة المميزة بالرقم (٢) للموافقة الصغرى. وضع الانابيب في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ساعتين على الاقل.	انتيجيناته ان وجدت في الخلايا الحمراء.
٤.	اكشف عن حدوث تكتل في الانبوبتين مستعينا بالمجهر والطرد المركزي.	للتعرف على امكانية حدوث تفاعل مصلي بين اية اجسام مضادة كاملة في عينات المصل مع انتيجيناتها في الخلايا الحمراء.
٥.	اغسل الخلايا الحمراء في الانابيب (١) و(٢) بالمحلول الملحي ثلاث مرات في حالة عدم رؤية التكتل في الخطوة السابقة.	للتخلص من أي اثر للمصل والجاماجلوبولين الخاص بالمصل وغير مرتبط بالخلايا الحمراء.
٦.	امزج الخلايا الحمراء في الانبوبتين بعد غسلها بالخطوة السابقة ب قطرة بوفاين البومين واتبعها ب قطرة من مصل كومب واكشف عن حدوث التكتل في الانبوبتين مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	للعمل على تقريب الخلايا الحمراء من بعضها عن طريق استبدال المحلول الملحي بالبوفاين البومين وربط الاجسام المضادة غير الكاملة المرتبطة بسطح الخلايا الحمراء مع بعضها وبالتالي تكتلها بـ AHG.
٧.	اعتبر نتيجة التجربة ايجابية في حالة عدم ملاحظة أي تكتل للخلايا الحمراء في أي من الانبوبتين (١)و (٢) وبالتالي يمكن صرف الدم للمريض.	بسبب عدم حدوث تفاعلات مصلية بين دم المريض ودم المتبرع.
٨.	نظف الانابيب والشرائح الزجاجية وافصل التيار عن المجهر والحمام المائي واعد مصل كومب والبوفاين البومين الى الثلاجة ونظف الموقع.	تمهيدا لاعادة التجربة عند الحاجة وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية –١٣٩–

تجربة البانيل Panel Test

الــــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى إجـــراء تجربـــة البـــانيل للكشـــف عـــن الأجســـام المضـــادة غـــير المتوقعـــة والمســـؤولة عـــن عـــدم التوافـــق المصلـــي بيـــن دم المريـــض ودم المتـــبرع.

المبـــدأ :

يتـــم تحديـــد نـــوع الأجســـام المضـــادة الموجـــودة فـــي أي مصـــل بشـــكل مبدئـــي بأســـلوب تجريبـــي يعتمـــد علـــى الأنتيجيـــن المشـــترك بيـــن جميـــع أنـــواع الخلايـــا الحمراء التـــي تكتلـــها.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- أنـــــابيب إختبـــــــــــار ١٠×١١٠ملـــم.
- ٣٠%بوفـــاين البوميـــن.
- حمام مـــائي.
- جهاز طـــرد مركـــزي.
- عشـــرة معلقـــات لخلايـــا حمـــراء مختلفـــة معروفـــة أنتيجنـــات خلايـــــا كـــل معلـــق.
- مصـــل كومـــــب (AHG).
- ثلاجـــة
- مجـــهر مـــزود بالعدســـات الشـــــيئية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	مـــيز ١١ أنبوبـــــا ١١٠ × ١٠ ملـــم بالأرقـــام ١ – ١١.	لتخصيـــص كـــل أنبـــوب لمجموعـــة خلايـــــا حمـــــراء انتيجناتـــها معروفـــة والأنبـــوب الأخـــــير لخلايـــا المريـــض الحمراء كـــأنبوب مرجعـــي.
٢.	أمزج فـــي كـــل أنبـــوب قطرتيـــن مـــن مصـــل المريـــض و قطرتيـــــن مـــــن معلـــق ٢٠% خلايـــا المجموعـــة التـــي تطابقها في الرقـــم بشـــكل جيـــد وضـــع الأنـــابيب بدرجـــة ٤م لمـــدة ١٥ دقيقـــة وتـــأكد مـــن حـــدوث التكتـــل مســـتعينا بـــالطرد المركـــزي والمجـــهر وســـجل النتائج فـــي عمـــود ٤^{o}م.	للكشـــف عـــن وجـــود الأجســـام المضادة البـــاردة.

٣.	أحفظ الأنابيب بدرجة برودة (RT) لمدة ١٥ دقيقة وتأكد من حدوث التكتل مستعينا بالطرد المركزي والمجهر وسجل النتائج في العمود RT	للكشف عن وجود الأجسام المضادة شبه الدافئة.
٤.	أمزج محتويات كل أنبوب مع قطرتين من محلول ٣٠ % بوفاين البومين وأحفظها بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ٣٠ دقيقة وتأكد من حدوث تكتل مستعينا بالمجهر وبالطرد المركزي.	للتأكد من وجود الأجسام المضادة عبر الكاملة بمساعدة الألبومين.
٥.	إغسل الخلايا الحمراء في جميع الأنابيب ثلاث مرات ومن ثم تخلص من الطافي بعد اخر عملية غسل.	للتخلص من مصل المريض وكذلك البوفاين البوميين بشكل كامل.
٦.	أمزج قطرتين من مصل كومب (AHG) مع الخلايا الحمراء بشكل جيد وتأكد من حدوث التكتل مستعينا بالطرد المركزي والمجهر وسجل النتائج في العمود AHG.	للكشف عن وجود أجسام مضادة غير كاملة بمساعدة مصل كومب.
٧.	أستعرض نتائج الخطوات السابقة بعد تدوينها في أعمدتها المخصصة ومن ثم ابحث على الانتيجين المشترك بين جميع مجموعات التي تكتلت بمصل المريض.	لتحديد نوع الأجسام المضادة غير المتوقعة الموجودة في عينة المصل والمسؤولة عن عدم التوافق.
٨.	ضع قطرتين من مصل المريض في ستة أنابيب وأضف الى ثلاثة منها معلقات ثلاث مجموعات من الخلايا تحمل الأنتيجين الذي تم استنتاج وجوده بتجربة البانيل وأضف الى بقية الأنابيب معلق ثلاث مجموعات خلايا حمراء خالية منه وأمزج جيدا ووفر ظروف وقت الحضانة المناسب وتأكد من حدوث التكتل مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	للتأكد من صحة النتيجة في كل تجربة البانيل في حالة ظهور التكتل في الأنابيب الثلاثة الأولى وعدم ظهوره في الأنابيب الثلاثة الثانية.
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٤٠-

حفظ محاليل (معلقات) الخلايا الحمراء مجمدة

الـــهدف :

أن يكـون الطـالب قـادرا علـى حفـظ محـاليل الخلايـا الحمــراء مجمـدة وإعـادة اسـتخدامها عنـد الحاجـة ككواشـف مخبريـة عـن الأجسـام المضـادة لإنتيجنـات الخلايا الحمراء بشكل عــام والنــادرة بشـكل خـاص.

المبــدأ :

تحفـظ الخلايـا الحمـراء مجمـدة لفـترة غـير محـددة بمسـاعدة الجليســـرول أو (DMSO) كمـادة مبطلـة لتـأثير التجميـد والتمييـع علـى الخلايـــا الحمـــراء، يسـتخدم الجليسـرول شـديد التركـــيز (٤٠-٤٧%) لحفـــظ الخلايـــا الحمـــراء بـالمجمدات الكهربائيـة بدرجـة ٦٥ – ٨٥م تحـت الصفــر.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- محلول ملحـــي
- جليســـيرول
- منظـم السـترات (١٩,٤ غـــم سـترات ثلاثيــة البوتاسـيوم + ٣,٢ غـــم مشـتقات أحاديـة الصوديـــوم + ٢,٩ مشـــتقات ثنـــاني الصوديـــوم / ٦٠٠ ملل ماء مقطـــر.
- محلـــول ٦٠% جليســـرول (٦٠ ملـــل جليســـرول + ٤ ملـــل منظــــم الســترات).
- محلـــول ٢٠% جليســـرول (٢٠ ملـــل جليســـرول + ٨٠ ملـــل منظــــم الســترات).
- محلـول ١٦% جليسـرول (١٦ ملـــل ٢٠% جليســـرول + ٤ ملـــل منظـــم الســترات).
- محلـول ٨% جليسـرول (٨ ملـــــل ٢٠% جليســـرول + ١٢ ملـــل منظـــم الســترات).
- محلـول ٤% جليسـرول (٤ ملـــــل ٢٠% جليســـرول + ١٦ ملـــل منظـــم الســترات).
- محلـول ٢% جليسـرول (٢ ملـــــل ٢٠% جليســـرول + ١٨ ملـــل منظـــد الســترات).

ملاحظة: تحفظ محاليل الجليسرول (٢ – ٦٠%) مجمدة حتى تميع عند الحاجة الى استخدامها,

- جهاز طـــرد مركـــزي
- أنابيب طـــرد مركـــزي
- حاويات زجاجيـــة صغـــيرة محكمـــة الإغـــلاق.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي (N.S) ثلاث مرات.	للتخلص من أية أثار للبلازما ومكوناتها.
٢.	أمزج بشكل تدريجي وبطيء الخلايا الحمراء المكدسة مع حجم مساو من ٢٠% جليسيرول.	لإحلال الجليسرول مكان المحلول الملحي كوسط حامل للخلايا الحمراء
٣.	أمزج معلق الخلايا الحمراء في ٢٠% جليسرول بشكل بطيء وتدريجي بحجم أخر مساو لحجم الخلايا الحمراء مكدسة مع محلول ٦٠% جليسرول.	للحصول على معلق خلايا حمراء بتركيز ٣٣% في محلول ٤٠% جليسرول.
٤.	وزع معلق الخلايا الحمراء المحضر في حاويات تحمل إسم الإنتيجينات الخاصة بها سعتها ١ ملل وبمعدل ٠,٥ ملل في كل حاوية وضع جميع الحاويات في حامل مناسب داخل مجمد كهربائي درجة حرارته أقل من ٣٠° تحت الصفر.	لحفظ الخلايا الحمراء مجمدة في المجمدات الكهربائية بشكل مستقل عن بقية محتوياتها حتى الحاجة لإستخدامها ولتجنب تحللها بسبب تكرار التجميد والتسييع.
٥.	ضع إحدى الحاويات في درجة حرارة الغرفة عند الحاجة لاستخدامها معلق الخلايا الحمراء ككاشف.	لرفع درجة حرارة المعلق المجمد وتمييعه.
٦.	عرض معلق الخلايا الحمراء بعد تمييعه للطرد المركزي بسرعة ١٢٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق وتخلص من الطافي بواسطة ماصات باستور.	للتخلص من محلول ٤٠% جليسرول.
٧.	أمزج الخلايا الحمراء المكدسة مع حجم مساو من محلول ١٦% جليسيرول بشكل جيد وأعد تعريضها للطرد المركزي وأفصل الطافي.	للتخلص من محلول ١٦% جليسيرول.
٨.	كرر الخطوة السابقة (٧) مع حجم مساو من محاليل جليسيرول ٨% و ٤% و ٢% وأخيرا محلول ملحي.	للتخلص من اثار الجليسيرول بشكل تدريجي كي لا تتحلل الخلايا الحمراء بسبب الصدمة الإسموزية.
٩.	أمزج مكدس الخلايا الحمراء بعد التخلص من الجليسيرول بشكل كامل مع أربعة أضعاف حجمها من المحلول الملحي.	للحصول على كاشف خلايا حمراء في المحلول الملحي بتركيز ٢٠%.

الكفاية العملية -١٤١-

الكشف عن انتيجينات البقع الحيوية بتجربة الغسل الدقيقة

(Microelution)

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى اســتخلاص البقــــع الحيويـــة وتشـــمل الــــدم والإفـــرازات المهبلية والســائل المنــوي واللعــاب وإفــرازات القنـــاة الهضميـــة والكشف عـــن انتيجيناتـــها لمطابقتـــها مـــع الانتيجنـــات الخاصـــة بالمتشـــبوهين.

المبـــدأ :

تســتخلص البقعـــة الحيويـــة ويتـــم التعـــرف علـــى مصدرهـــا إن كـــان إنســـــانا أو حيوانـــــا يتبـــع ذلـــك الكشـــف عــــن وجــــود انتيجنـــــات الخلايـــــا الحمــــراء M.N.H.B.A.E.C.D.S الــــخ وبروتينـــات المصـــــل Km, Gm. عـــن طريـــق تعطيلـــها للأجســـام المضـــادة بطريقـــة الغســـل الدقيقـــة Microeluion. تعتــبر بروتينـات المصــل Km, Gm فعالـــة فــــي التعــــرف على بقـــع الـــدم ومطابقتـــها مـــع دم المشـــبوهين لأنـــها ثابتـــة بشـــكل ملمـــوس ولا تتأثر بالحرارة ويمكن إثبات وجودهـــا بعــد زمــن طويـــل نســبيا.

الأجــهزة والادوات والمــواد اللازمــــــة :

- أمصـــال الأجســـام المضـــادة لمختلـــف انتيجنـــات المجموعـــات الدمويـــة وخاصـــة نظـــام S,N,M,.H,B,A وانتيجنـــات بروتينـــات المصـــل Km,Gm.
- معلقــات خلايــا حمـــراء فــــي المحلـــول الملحـــي بتركـــيز ١% تخــص الانتيجنـــات المطلـــوب الكشـــف عـــن وجودهـــا معالجـــة بالأنزيمـــات المناســـبة عند الضـــرورة.
- قطـــارات مناســـبة (باســـتور)
- معلقـــات حبيبـــات البوليســـترين (لاتيكـــس) المكســـوة بانتيجنـــات Km, Gm
- ماء مقطـــر
- ثلاجـــة
- أنابيب شـــعرية
- ماء مقطـــر
- جهاز طــــرد مركـــزي
- أنـــابيب إختبـــار ١١٠×١٠ملـــم
- محلول ملحـــي
- مقـــص
- حمام مائي مـــزود بـــهزاز
- محلـــول بوفـــاين البوميـــن ٣٠%

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تأكد من وجود بطاقة العينة قبل استلامها توضح مصدرها وطبيعتها وتاريخ جمعها.	لمطابقتها مع العينة ولتوثيقها في السجلات للرجوع اليها عند الحاجة
٢.	أعط العينة رقمها المخبري المتسلل.	لتسهيل عملية الرجوع اليها في السجلات.
٣.	قم بفصل البقعة المطلوب التعرف على انتيجيناتها عن بقية النسيج أو السطح الحامل لها وجزئها الى أكبر عدد ممكن من الأجزاء التي مساحتها أكبر من ٠,٥سم^{٢}.	لاستخدام الإجزاء في التجارب الخاصة في التعرف على نوع العينة وانتيجيناتها.
٤.	استخلص البقع الحيوية من النسيج الحامل بأقل كمية من الماء المقطر وقم بالكشف عن ما يلي:	للتعرف على طبيعة ومصدر البقع الحيوية.
	أ. نشاط انزيم البيريدوكسيديز باستخدام محلول البنزيدين أو الفينول فيثالين المختزل.	لتمييز بقع الدم عن غيرها.
	ب. الفسفوتيز الحامضي	لتمييز السائل المنوي والإفرازات المهبلية عن غيرها.
	ج. وجود حيوانات منوية.	للتفريق بين البقع اللعابية والإفرازات المهبلية.
	د. نشاط انزيم الأميليز ووجود خلايا طلائية.	تتميز البقع اللعابية بنشاط محسوس لإنزيم الأميليز في حين تخلو الإفرازات المهبلية من أي أثر للأنزيم.
٥.	أملأ أنبوب شعري حتى ربعه بمستخلص البقعة الصافي واتبعه بحجم مساو من مصل كومب (AHG) وأكشف عن وجود راسب أبيض في سطح التماس.	لتمييز دم الإنسان عن دم بقية الحيوانات.
٦.	وزع في أنابيب اختبار ١١٠×١٠ملم ثلاث خيوط (طول ٢ملم) أو قطعة قماش ملوثة	لمفاعلة انتيجينات البقع كل على حدة مع جسمه المضاد.

	بالبقعة مساحتها، ٢٢ ملم٢ أو ما يعادلها من السطوح الأخرى بعدد الإنتيجينات المطلوب الكشف عنها وأغمر كل منها في ٠,٠٦ ملل من مصل الأجسام المضادة المخففة المضادة المجمعة بشكل مناسب وأحفظ الأنابيب بدرجة الحرارة المناسبة بعد اغلاقها بأحكام لمدة ٢٤ ساعة.	
٧.	تخلص من المصل بالطرد المركزي وأغسل خيوط التسيج ٥ مرات بالمحلول الملحي من المثلج بحيث تغسل آخر مرة بخليط ٣٠% بوفاين البومين والمحلول الملحي المثلج بنسبة ١:١٠٠ وحافظ على وجود الأنابيب خلال عملية الغسل التي تستغرق ٢-٣ ساعات بدرجة ٤م.	للتخلص من المصل وبقية السوائل بشكل كامل بعد كل عملية غسل والاحتفاظ بانتيجنات البقع وأجسامها المضادة المرتبطة معها.
٨.	أغمر الخيوط بـ ٠,٠٦ ملل من الألبومين المخفف في حمام مائي بدرجة ٥٥-٦٠م على هزاز لمدة ١٠دقائق.	لاستخلاص ما ثبت من الأجسام المضادة على سطح الخيوط بعد تفاعلها مع الانتيجينات.
٩.	أضف ٠,٠٣ ملل من معلق خلايا حمراء في الأنبوبين تركيز ٠,٣% وأمزج الأنابيب جيدا وأحفظها لمدة ساعة ونصف في درجة الحرارة المناسبة.	لإتاحة الفرصة للأجسام المضادة التي تم تحريرها من الخيوط للتفاعل مع انتيجيناتها في سطح الخلايا الحمراء المضافة.
١٠.	تأكد من حدوث التكتل بمساعدة الطرد المركزي والمجهر.	لأن ظهور التكتل يشير الى وجود الانتيجين في البقعة الحيوية.
١١.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة والحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الفصل السابع

الكيمياء التحليلية

Analytical Chemistry

الكفاية العملية -١٤٢-

تحضير المحاليل القياسية

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير المحاليل القياسية (المحاليل المعروف تركيزها بدقة تامة) وأن يعبر عن تركيزها بالطرق المختلفة.

المبدأ :

يتم إجراء الحسابات اللازمة لمعرفة كمية المذاب (بالغم للمركبات الصلبة والملل للمركبات السائلة) اللازمة بناءا على تركيز وحجم المحلول القياسي المطلوب تحضيره. يتم إذابة كمية المذاب المحسوبة بأقل كمية ممكنة من المذيب ومن ثم تخفيف المحلول بدرجة حرارة الغرفة الى الحجم المطلوب تحضيره. يتم التعبير عن تركيز المحلول القياسي بأي من الطرق التالية: الوحدات المطلقة (غم/ لتر أو أجزائه) والنسبة المئوية والألفية والمليونية والجزيئية (مول/لتر) والمعيارية (وزن مكافي/ لتر).

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- دوارق قياسية بسعات مختلفة
- كؤوس زجاجية بسعات مختلفة
- قضيب زجاجي
- قمع زجاجي يناسب فتحة الدوارق القياسية
- زجاجات غسل
- سخان كهربائي
- ميزان حساس
- آلة حاسبة
- ماء مقطر كمذيب
- عبوة المركب المذاب

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تعرف على حجم المحلول القياسي المطلوب تحضيره	لإختيار الدورق القياسي الذي يساوي حجمه أو يزيد قليلا عن حجمه.
٢.	تعرف على طبيعة المذاب ورمزه الجزئي كاملا	لإستخدام الرمز الجزئي في تحويل وحدة تركيز المحلول القياسي المطلوب الى الوحدات المطلقة (غم/لتر).
٣.	تعرف على الكثافة النوعية (ك.ن) للمذاب إذا كان سائلا	لإستخدامها في تحويل كمية المذاب السائل من الغرامات الى مليلترات.

٤.	طبق أي من المعادلات التالية لتحويل وحدة تركيز المحلول القياسي المطلوب الى الوحدات المطلقة (غم / لتر) ١. النسبة المئوية × ١٠ ٢. النسبة المئوية × ١٠ × ك.ن ٣. النسبة الألفية (PPT) ×١ ٤. النسبة الألفية (PPT) × ١ × ك.ن ٥. النسبة المليونية (PPM) × ١٠ × $^{-٣}$ ٦. النسبة المليونية (PPM) × ١٠$^{-٣}$ × ك.ن ٧. المعيارية (N) × وزن مكافئ ٨. الجزئية (مول/لتر) × وزن جزيئي	لتحويل النسبة المئوية (W/V) الى وحدة غم/لتر لتحويل النسبة المئوية (V/V) الى وحدة غم/لتر لتحويل النسبة الالفية (W/V) الى وحدة غم/لتر لتحويل النسبة الالفية (V/V) الى وحدة غم/لتر لتحويل النسبة المليونية (W/V) الى وحدة غم/لتر لتحويل النسبة المليونية (V/V) الى وحدة غم/لتر لتحويل المعيارية الى وحدة غم/لتر لتحويل المعيارية الى وحدة غم/لتر
٥.	تعرف على الرمز الجزيئي للمركب المطلوب تحضير محلوله القياسي وبقية المعلومات المثبتة على عبوته	للأخذ بعين الإعتبار ماء التبلور والشوائب في حالة وجودها أثناء القيام بالإجراءات الحسابية ولمعرفة الكثافة النوعية إذا كان سائلا وكذلك الوزن الجزيئي.
٦.	أحسب وزن المركب بالغم اللازم لتحضير الحجم المطلوب (إذا تطابق مع سعة أي دورق قياسي) او حجم الدورق القياسي الذي يلي الحجم المطلوب) من المحلول القياسي بعد معرفة تركيزه بالوحدات المطلقة (غم /لتر).	لوزنها بشكل دقيق بالميزان الحساس إذا كان المذاب صلبا أولا خذ الحجم الذي يعادل وزنها إذا كان المذاب سائلا ويعادل (الوزن / ك.ن)
٧.	ضع كمية المذاب الموزونة في كأس زجاجي مناسبة وأعمل على إذابته بأقل كمية من المذيب (ماء مقطر) مستعينا بالتحريك بواسطة قضيب زجاجي ورفع درجة الحرارة إذا لزم.	للحصول على محلول مشبع.
٨.	أنقل الطافي بعد ترويق المحلول إذا لم تكتمل إذابة الكمية الموزونة الى الدورق القياسي بواسطة قمع مناسب.	لإتاحة الفرصة لإذابة ما تبقى في الكأس من المذاب.

.٩	كرر الخطوات ٧ و ٨ حتى عدم روية أية أثر للمذاب في الكأس.	للتأكد من اكتمال إذابة الكمية الموزونة والاحتفاظ بها في الدورق القياسي
.١٠	إملأ الدورق القياسي بالمذيب حتى ما قبل العلامة المثبتة على عنق الدورق القياسي ومن ثم حتى يتطابق مؤشر سطح التقعر مع العلامة بالتنقيط.	لضبط الحجم النهائي للمحلول القياسي إذا كانت درجة حرارته بدرجة حرارة الغرفة وبشكل مبدئي إذا استخدمت الحرارة في عملية الإذابة.
.١١	أترك الدورق القياسي حتى يكتسب درجة حرارة الغرفة إذا استخدمت الحرارة في تحضير المحلول وأعد ضبط مؤشر سطح المحلول على العلامة بالتنقيط.	لتعويض ما تقلص من حجم المحلول القياسي خلال عملية التبريد.
.١٢	أقفل الدورق القياسي بسداد وامزج محتوياته بالتقليب.	للحصول على محلول قياسي متجانس التركيز.
.١٣	قم بمعايرة المحلول القياسي المحضر بمحلول قياسي أساسي إذا كان المذاب مركبا ثانويا.	لمعرفة تركيز المحلول القياسي الثانوي المحضر بشكل دقيق.
.١٤	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعداد التحضير محاليل قياسية أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٤٣-

إستخدام الماصات (Pipettes)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام الماصات الزجاجية في الحصول على أحجام محددة من السوائل بشكل دقيق عند الحاجة لها في التجارب المخبرية.

المبدأ :

تملأ الماصات بالسوائل بعد غمس فتحاتها الضيقة تحت سطح السائل بفعل الفراغ المستحدث فوق سطح السائل داخل الماصة. تختلف الماصات عن بعضها بسعاتها وحساسياتها وطريقة استحداث الفراغ فوق سطح السائل داخلها. يقدر مدى السعة في الماصات الزجاجية بـ ٠,١ – ٢٥ مللتر ومدى حساسيتها بـ ١ ميكل الى ١ ملل. يستخدم الفم في استحداث الفراغ فوق سطح السائل داخل الماصة عند التعامل مع السوائل المأمونة (غير ضارة) وتستخدم السيرينجات أو المضخات المطاطية في استحداث الفراغ فوق سطح السائل داخل الماصة عند التعامل مع السوائل غير المأمونة. تستخدم الماصات الاوتوماتيكية عند التعامل مع العينات.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ماصات زجاجية
- أي من السوائل المامونة
- سوائل غير مأمرنة (حارقة أو سامة).
- مضخات مطاطية
- العينات
- ماصات أوتوماتكيكية.

أ. استخدام الماصات الزجاجية بواسطة الفم

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تعرف على كمية السائل المطلوب الحصول عليها.	لإختيار الماصة ذات السعة والحساسية المناسبة.
٢.	تأكد من أن الماصة التي تم اختيارها نظيفة وجافة.	لتجنب تلوث السائل بالشوائب السائلة والجافة.
٣.	أقبض على الجزء العلوي للماصة (فوق التدريج أو علامة السعة أو الصفر) وقريبا من فتحة الماصة العليا بإبهام ووسطى اليد اليمنى	كي يكون بالإمكان استخدام الشاهد في التحكم بدخول الهواء من الفتحة العليا للماصة ولمشاهدة حركة السوائل داخل

	بحيث يكون التدريج أو علامة السعة باتجاه الوسطي.	الماصة اثناء استخدامها
٤.	أقبض على حاوية السائل باليد اليسرى بعد إزالة سدادها.	لكي تتمكن من سحب السائل من الحاوية بأقل جهد ممكن (دون الحاجة إلى الإنحناء أو الوقوف على رؤوس أصابع القدمين).
٥.	أغمس الفتحة الضيقة للماصة تحت سطح السائل واستحدث الفراغ الذي يسمح بصعود السائل الى أعلى من الصفر الحقيقي أو الصفر الإفتراضي بحوالي ١ – ٢ سم عن طريق سحب الهواء بالفم وأقفل الفتحة العليا بشاهد اليد اليمنى.	للحصول على كمية السائل تزيد قليلا عن الكمية المطلوبة.
٦.	حول التدريج أو علامة السعة باتجاه الإبهام وأضبط أدنى قطرة من صحن تقعر سطح السائل على الصفر الحقيقي أو الافتراضي بحيث يكون مسقط النظر عموديا عليه عن طريق السماح بخروج السائل الفائض الى الحاوية.	لمشاهدة سطح السائل وعلامة الصفر وبسبب اعتبار أدنى قطرة من سطح التقعر مؤشرا لسطح السائل ولتوفير الدقة في القياس.
٧.	استبدل حاوية المحلول بأنبوب إختبار أو أي حاوية أخرى واسمح بخروج كمية السائل المطلوبة بضبط مؤشر سطح السائل على العلامة المناسبة كما ضبط على علامة الصفر.	للحصول على كمية السائل المطلوبة بشكل دقيق.
٨.	ضع الأنبوب في حامله وأعد فائض السائل المتبقي في الماصة الى حاويته وأقفلها.	لإستخدامه في تجارب أخرى.
٩.	نظف الماصة بالماء المقطر وضعها في محلول الغسيل لمدة نصف ساعة وأعد غسلها بالماء المقطر وأعدها مع المحاليل الى أماكن حفظها ونظف مكان العمل	استعدادا لإستخدامها مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ب. استخدام الماصات الزجاجية بواسطة المضخة المطاطية

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	بعد اختيار الماصة الزجاجية والتأكد من نظافتها ثبت في فتحتها العليا المضخة المطاطية.	لاستخدامها بدل الفم في استحداث الفراغ فوق سطح السائل داخل الماصة لوقاية الفني نفسه من تأثير المحاليل غير المأمونة.
٢.	أقبض على الماصة قرب المضخة المطاطية باليد اليسرى واضغط بالإبهام والشاهد على الموقع رقم ١ وفي اليد اليمنى على الكرة المطاطية.	لطرد الهواء من الكرة المطاطية عن طريق فتحة الموقع رقم١.
٣.	أرفع الضغط عن الموقع ١ قبل رفعها عن الكرة المطاطية المفرغة من الهواء.	لمنع عودة الهواء الى الكرة المطاطية من خلال فتحة الموقع رقم ١ والاحتفاظ بالفراغ داخلها.
٤.	أقبض على الجزء العلوي من الماصة قرب الكرة المطاطية بالوسطى وخنصر وبنصر اليد اليمنى وراحتها بحيث يكون التدريج أو علامة السعة مواجها لك وأقبض على حاوية السائل بعد فتحها باليد اليسرى.	كي يكون بالإمكان استخدام ابهام وشاهد اليد اليمنى في الضغط على المواقع ٢ و ٣ بحرية ولمشاهدة حركة السوائل داخل الماصة.
٥.	أغمس الفتحة السفلى (الضيقة) للماصة تحت سطح السائل واضغط بإبهام وشاهد اليد اليمنى على الموقع رقم ٣ حتى صعود السائل حتى يتطابق مؤشر سطحه مع الصفر الحقيقي أو الافتراضي.	لإحداث فراغ نسبي فوق سطح السائل داخل الماصة بوصله مع الفراغ النسبي للكرة المطاطية والسماح بارتفاع السائل داخل الماصة.
٦.	استبدل حاوية السائل بانبوب اختبار أو أية حاوية أخرى وأقفلها وأضغط بإبهام وشاهد اليمنى على موقع المفتاح رقم ٢.	للسماح بدخول الهواء من فتحة الموقع رقم ٢ الى سطح السائل داخل الماصة وبالتالي خروج السائل من منها.
٧.	راقب حركة نزول مؤشر سطح السائل وأرفع الضغط	للحصول على كمية السائل المطلوب في أنبوب الاختبار بدقة.

	عن فتحة الموقع رقم ٢ عند تطابق مؤشر سطح السائل مع العلامة المطلوبة.	
٨.	ضع الأنبوب في حامله وضع فتحة الماصة الضيقة في فتحة حاوية السائل واضغط موقع رقم ٢ حتى خروج السائل من الماصة بشكل كامل.	لإستخدام السائل مرة أخرى عند الحاجة.
٩.	تجنب دخول السوائل الى الكرة المطاطية أثناء استخدام المضخة.	لوقاية المضخة المطاطية من التلف بسبب تأثر المطاط بالسوائل المتسخدمة.
١٠.	نظف الماصات بالماء المقطر بعد تركها في محلول الغسيل لنصف ساعة على الأقل ونظف مكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لاستخدامها مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

جـ. استخدام الماصات الاوتوماتيكية

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	بعد اختيار الماصة المناسبة ثبت في فتحتها رأسا Tip غير ثابت يناسبها.	لاستخدام المقدمة في التعامل مع عينة واحدة فقط.
٢.	أقبض على الماصة براحة يدك اليمنى بحيث تكون واجهة الماصة مقابل الأصابع وأضغط حتى المستوى الأول بإبهام اليمنى.	لطرد هواء بحجم العينة.
٣.	أغمس رأس الماصة تحت سطح العينة بدون تعكير محتوياتها وأرفع ضغط المستوى الأول.	لإحداث فراغ يستوعب داخله حجم العينة المطلوبة.
٤.	أخرج مقدمة الماصة خارج العينة وأنقلها الى أنبوب اختبار أو حاوية مناسبة واضغط بإبهام اليمنى حتى المستوى الثاني.	لطرد الحجم المطلوب من العينة داخل أنبوب الاختبار أو الحاوية.
٥.	تخلص من رأس الماصة وثبت في مقدمتها رأسا جديدة.	استعدادا لاستخدام الماصة في الحصول على نفس الحجم من العينات الأخرى.

٦.	قم بإعادة الخطوات ٢ و ٣ و ٤ و ٥ مع كل عينة.	لاستخدام الماصة في الحصول على نفس الحجم من العينات الأخرى.
٧.	نظف مكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لاستخدام الماصة مرة أخرى عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٤٤-

استخدام السحاحة (Burette) في المعايرات الكيميائية

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام السحاحة في إجراء المعايرات الكيميائية المختلفة.

المبدأ :

يتمثل المبدأ العلمي للمعايرة الكيميائية بأن التفاعلات الكيميائية تكتمل دائما بأعداد متساوية من الأوزان المكافئة للمواد المتفاعلة. يمكن معرفة عدد الأوزان المكافئة في أي محلول بضرب معياريته (Normality) بحجمه باللترات. تستخدم السحاحة لمعرفة حجم المحلول القياسي اللازم لإكتمال تفاعله مع حجم محدد من العينة يشار لاكتمال التفاعل في عمليات المعايرة ب قطرة النهاية وتتميز بعدم وجود فائض من المواد المتفاعلة في دورق المعايرة. تحدد قطرة النهاية في عمليات المعايرة باختفاء اللون أو ظهوره إذا رافق التفاعل الكيميائي تغيير لوني أو بمساعدة الكواشف أو باستخدام الأقطاب الكهربائية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- سحاحة ذات سعة وحساسية مناسبة
- حامل مناسب للسحاحة
- بلاطة سيراميك بيضاء
- قمع يناسب الفتحة العلوية للسحاحة
- دورق مخروطي سعة ١٠٠ أو ٢٥٠ ملل.
- محاليل قياسية للمعايرة ١
- كاشف مناسب لعملية المعايرة
- محاليل العينات ٢
- ماء مقطر.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ثبت السحاحة بواسطة الحامل بشكل عمودي بحيث يواجهك تدريجها ويكون مقبض السداد السفلي باتجاه اليمين.	استعدادا لغسلها ومعايرتها وملئها بمحلول المعايرة.
.٢	ضع بلاطة السيراميك فوق قاعدة حامل السحاحة.	كي توفر خلفية بيضاء أسفل دورق المعايرة تساعد على مشاهدة أي تغيير لوني في المحلول.
.٣	ضع القمع في الفتحة العليا للسحاحة .	لإستخدامه في ملئ السحاحة بالمحاليل.

٤.	ضع تحت فتحة السحاحة السفلى دورق مخروطي واملأ السحاحة بالماء المقطر وتخلص منه بفتح سداد فتحتها السفلى كرر عملية ملئ السحاحة وتفريغها مرة أخرى.	لغسل السحاحة والتأكد من خلوها من أية رواسب ملحية.
٥.	أكشف عن صلاحية سداد الفتحة السفلية للسحاحة إذا كان زجاجيا وتأكد من عدم خروج المحلول من جوانبه عند التعامل معه.	كي نضمن استخدام كامل للمحلول القياسي بواسطة السحاحة في عملية المعايرة وعدم هدره خارج التفاعل.
٦.	اغسل السحاحة مرتين بمحلول المعايرة ١.	للتخلص من آثار أو نقط الماء داخلها.
٧.	أملأ السحاحة بمحلول المعايرة ١ وافتح السداد السفلي لخروج عدة مليلترات من المحلول.	للتخلص من الهواء المحصور بين السداد ورأس السحاحة .
٨.	أضبط مؤشر سطح المحلول داخل السحاحة (أدنى قطرة في تقعر سطحه) على الصفر الإفتراضي المناسب بدل الصفر الحقيقي.	للقيام بعملية المعايرة دون توتر أو إجهاد نتيجة محاولات الوقوف على أطراف الأصابع لوضع علامة الصفر الحقيقي في متناول المسقط العمودي للنظر على سطح التدريج.
٩.	أسمح بخروج ٢٠ قطرة من محلول المعايرة ١ من فتحة السحاحة السفلي وحدد موقع مؤشر سطح المحلول داخل السحاحة.	لقياس حجم قطرة السحاحة بتقسيم حجم المحلول الذي خرج من السحاحة على عدد النقط (٢٠) وبالتالي معايرة السحاحة.
١٠.	ضع في دور مخروطي سعة ٢٥٠ ملل نظيفة حجم (V_2=١٠ملل) من محلول العينة ٢ وأضف لها حوالي ٢٠ ملل ماء مقطر.	للمساعدة على مشاهدة أدنى تغيير في اللون كمؤشر على قطرة النهاية عن طريق تخفيف العينة.
١١.	ضع ٢ – ٣ نقط من الكاشف المناسب لعملية المعايرة عند اللزوم.	لتحديد قطرة النهاية عن طريق تغيير لون الكاشف عند وجود أدنى فائض من محلول المعايرة في كأس المعايرة.
١٢.	إحتوي سداد الفتحة السفلي للسحاحة براحة يدك	للتمكن من فتح وإقفال السداد بسهولة وثبات.

	اليسرى وأقبض على سداد الفتحة السفلى بشاهد وإبهام اليد اليسرى.	
١٣.	أقبض على دورق المعايرة بإبهام وشاهد ووسطى اليد اليمنى واسمح بخروج محلول المعايرة بكميات قليلة الى محلول العينة (٢) في دورق المعايرة مع الخض المستمر حتى قطرة النهاية.	لمعرفة حجم المبدئي من محلول المعايرة (١) اللازم للوصول الى قطرة النهاية وذلك بإيجاد الفرق بين موقع مؤشر سطح المحلول داخل السحاحة قبل المعايرة (الصفر الافتراضي) وبعد المعايرة (قطرة النهاية).
١٤.	أعد الخطوات ١٠ و ١١ و ١٢ و ١٣ مرة أخرى بحيث تضاف كمية من محلول المعايرة تعادل أقل من الحجم المبدئي بـ ١ ملل والانتظار حتى إختفاء قطرة النهاية بسبب الخض ومن ثم استعادتها مرة أخرى بإضافة محلول المعايرة بالتنقيط والخض.	لمعرفة الحجم التقريبي من محلول المعايرة اللازم للوصول الى قطرة النهاية.
١٥.	نقص حجم قطرة محلول المعايرة المسؤولة عن ظهور قطرة النهاية من الحجم التقريبي لمحلول المعايرة.	للحصول على الحجم الحقيقي وبشكل دقيق لمحلول المعايرة (V_1) اللازم لاكتمال التفاعل مع حجم العينة (V_2) الموجود في دورق المعايرة.
١٦.	طبق معادلة المعايرة التالية على نتائج التجربة: $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$ حيث V_1, N_1 معيارية وحجم المحلول القياسي (محلول المعايرة و V_2, N_2 معيارية وحجم محلول العينة على التوالي.	لحساب معيارية العينة (N_2).
١٧.	نظف السحاحة بالماء المقطر مرتين بعد تفريغها من محلول المعايرة وأعد ملئها بالماء المقطر وأقفل فتحتها العليا بسداد.	لمنع تراكم الرواسب الملحية داخلها وخاصة في محيط السداد وفتحتها السفلي.

١٨.	نظف بقية الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى اماكن حفظها.	استعدادا لإجراء المعايرة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٤٥-

استخدام الميزان المخبري (Analytical Balance)

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى اســـتخدام الموازيـــن المخبريـــة فـــي قيـــاس كتـــل المـــواد المختلفـــة وتحضـــير المحـــاليل القياســـية أو وزن الراســـب بعـــد تنقيتـــه مـــن الشوائب كآخر خطوة عمليـــة فـــي التحليـــل الوزنـــي.

المبـــدأ :

تتمثل عمليـــة الـــوزن بالمقارنـــة بيـــن قـــوة جاذبيـــة الأرض للكتـــل الموزونـــة مـــع قـــوة جاذبيتـــها لكتـــل قياســـية (مرجعيـــة) فـــي نفـــس الموقـــع. تصنـــف الموازيـــن بنـــاءا علـــى آليـــة عملـــها الـــــى موازيـــن الكفتيـــن (Two Pans Balance) وموازيـــن الكفـــة الواحـــدة (Single Pan Balance). تتمـــيز موازيـــن الكفتيـــن بـــأن حساســـيتها غـــير ثابتـــة بســـبب عـــدم ثبـــات كتلـــة شـــعاع المـــيزان وملحقاته لأنها تزيـــد بمـــا يعـــادل ضعـــف الكتلـــة الموازنـــة فـــي كـــل عمليـــة. لـــذا يفضـــل اســـتخدام موازيـــن الكفـــة الواحـــدة لأن حساســـيتها ثابتـــة بســـبب ثبـــات كتلـــة شـــعاع المـــيزان وملحقاتـــه. تتـــم عمليـــة الـــوزن بمـــيزان الكفـــة الواحـــدة بإحلال الكتلة الموزونـــة مكـــان مـــا يعادلـــها مـــن أوزان محلقـــة بالكفـــة فـــي أحـــد أطـــراف الشـــعاع. فـــي حيـــن تتـــم عمليـــة الـــوزن فـــي مـــيزان الكفتيـــن بوضـــع الكتلة الموزونـــة فـــي الكفـــة اليســـرى للمـــيزان ووضـــع مـــا يعادلـــها مـــن الكتـــل القياسية في الكفـــة اليمنـــى.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- ميزان الكفتيـــن.
- ميزان الكفـــة الواحـــدة.
- المواد المطلـــوب قيـــاس كتلـــها.
- مجموعة كتـــل قياســـية.

أ. استخدام ميزان الكفتين

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أضبـــط الأرجـــل المســـــننة لقـــاعدة المـــيزان حتـــى تقـــع الفقاعـــة الهوائيـــة الخاصـــة بـــالميزان المـــائي المثبـــــت فـــي قـــاعدة المـــيزان فـــــي مركـــز الدائـــــرة أو حتـــــى يتطـــــابق رأس الشـــاقول المدبـــب مـــع رأس الديـــوس العمودي المثبت أســـفله فـــي القـــاعدة.	لجعـــل ســـطح قـــاعدة المـــيزان في مستوى أفقـــي.

٢.	ضع شعاع الميزان وملحقتها في حالة تأرجح (منشور الإرتكاز يلامس قاعدة الارتكاز) وتأكد من أن إنحراف مؤشر الميزان على جانبي الصفر متساويا. استخدم مسننات نهاية الشعاع للتحكم في موقع المؤشر على لوحة التدريج عندما يكون الشعاع مستقرا.	للتأكد من إتزان الميزان قبل استخدامه عن طريق جعل قطرة استقرار المؤشر هي قطرة الصفر المثبتة على لوحة التدريج أسفل قاعدة الميزان.
٣.	أعد شعاع الميزان وملحقاته الى حالة الإستقرار وضع الجسم المطلوب وزنه بعد التأكد من أن درجة حرارته تطابق درجة حرارة الميزان في الكفة اليسرى للميزان وضع كتل قياسية تقارب كتلة الجسم في الكفة اليمنى للميزان باستخدام الملقط.	كي يتم التعامل مع محتويات الكفتين والشعاع وملحقاته ومنشور الارتكاز بعيد عن قاعدة الإرتكاز.
٤.	أقفل أبواب الميزان الجانبية وأعد الشعاع وملحقاته الى وضع التأرجح حيث يلامس منشور الارتكاز قاعدة الارتكاز.	لمقارنة كتلة الجسم الموجودة في كفة الميزان اليسرى مع الكتل القياسية الموجودة في كفته اليمنى بعيدا عن تدخل تيارات الهواء.
٥.	أعد الشعاع وملحقاته الى حالة الإستقرار وقم بإضافة المزيد من الكتل القياسية بشكل تدريجي الى الكفة اليمنى إذا كان انحراف المؤشر في حالة التأرجح على يمين قطرة الصفر أو بإزالة الكتل القياسية بشكل تدريجي من الكفة اليمنى إذا كان انحراف المؤشر في حالة التأرجح على يسار نقطة الصفر.	للوصول الى حالة الاتزان بين كتلة الجسم الموجودة في الكفة اليسرى مع الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى.
٦.	أعد الشعاع وملحقاته الى وضع الاستقرار وأجمع قيم الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى عند إزالتها بالملقط.	لمعرفة كتلة الجسم بشكل دقيق.
٧.	قم بإزالة الكتلة الموزونة وأقفل أبواب الميزان وحافظ عليه ثابتا في موقعة بعيدا عن التيارات الهوائية ومصادر الغبار.	إستعداد لإعادة استخدامه عند الحاجة.

.٨	عند الحاجة لوزن كتلة معلومة من أي مركب تأكد من سحقه.	للتعامل معه على شكل غبار وذلك لتوفير أكبر قدر من الدقة في عملية الوزن.
.٩	تعرف على كتلة زجاجة ساعة نظيفة وجافة وسعتها مناسبة بتنفيذ الخطوات ٣ و ٤ و ٥ و ٦.	لاستخدام زجاجة الساعة المعروف وزنها كحاوية للمسحوق لوقاية الكفة من التفاعل مع المركبات الموزونة.
.١٠	أضف الى الكتل القياسية التي تعادل زجاجة الساعة مجموعة كتل قياسية تعادل الكتلة المطلوب وزنها من المركب في الكفة اليمنى وضع في زجاجة الساعة كمية من مسحوق المركب تقارب الكتلة المطلوب وزنها واجعل الميزان في وضع التأرجح بعد قفل أبواب الميزان الجانبية.	لمقارنة الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى مع كتلة زجاجة الساعة وكتلة ما تحتويه من مسحوق المركب.
.١١	أضف قليلا من مسحوق المركب الى زجاجة الساعة في الكفة اليسرى إذا انحرف المؤشر الى اليسار أو نقص المسحوق قليلا إذا انحرف المؤشر الى اليمين. كرر أي من الإجرائين حتى يتساوى انحراف المؤشر على جانبي قطرة الصفر.	للوصول الى حالة الاتزان بين الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى وزجاجة الساعة والمسحوق داخلها في الكفة اليسرى.
.١٢	أعد الشعاع الى وضع الاستقرار وقم بإزالة الكتل القياسية وزجاجة الساعة بما تحتويه من مسحوق وأغلق أبواب الميزان وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة وزن كمية أخرى من مسحوق المركبات.

ب. استخدام ميزان الكفة الواحدة

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	أضبط الأرجل المسننة لقاعدة الميزان حتى تقع الفقاعة الهوائية الخاصة بالميزان المائي المثبت في قاعدة الميزان في وسط الدائرة.	لجعل سطح قاعدة الميزان في مستوى أفقي.

.٢	ضع شعاع الميزان في حالة تأرجح بواسطة الرافعة عندما تكون الكفة خالية وجميع الكتل القياسية تدعم عزمها بجعل جميع القراءات الرقمية الخاصة بمئات وعشرات والجرامات وأعشار الجرامات أصفارا وأعمل على مطابقة المؤشر مع صفر الشريط الضوئي (استخدام المفاتيح الخاصة بالميزان).	لمعايرة الميزان عن طريق مطابقة قطرة استقراره مع قطرة صفره.
.٣	أعد شعاع الميزان الى حالة الاستقرار وضع الجسم المطلوب قياس كتلته في الكفة من خلال النافذة الجانبية بعد التأكد من تطابق درجة حرارة مع حرارته الميزان وأعد إغلاق النافذة.	كي يتم التعامل مع الكفة وملحقاتها وشعاع الميزان في حالة استقرار بعيدا عن التيارات الهوائية.
.٤	استخدم مفاتيح القراءات الرقمية الخاصة بالكتل القياسية في رفع كتل قياسية يقارب مجموعها (في تقديريك) الكتلة الموزونة عن الكفة وأعد الشعاع الى حالة التأرجح.	لمقارنة الكتلة الموزونة مع مجموع الكتل القياسية التي تم رفعها عن عزم الكفة.
.٥	تأكد من وجود مؤشر الميزان داخل الشريط الضوئي المتحرك والمدرج من ٠ –١٠٠ملغم.	لمعرفة قيمة الكتلة الموزونة لأقرب ملغم عن طريق مجموع الكتل القياسية التي تم رفعها عن عزم الكفة.
.٦	استخدم المفتاح المناسب لرفع المزيد من الكتل القياسية (10^{-4}غم) عن عزم الكفة عند وجود المؤشر بين أي خطين متجاورين في تدريج الشريط الضوئي حتى يتطابق المؤشر مع الخط الأقل قيمة.	لمعرفة قيمة الكتلة الموزونة بشكل دقيق ولأقرب ٠,١ ملغم التي تمثل حساسية الميزان.
.٧	أعد شعاع الميزان الى حالة الاستقرار وقم بإزالة الكتلة الموزونة عن الكفة وأعد الكتل القياسية المرفوعة الى عزم الكفة بتحويل جميع القراءات الرقمية الى صفر وأغلق النافذة.	استعدادا لاستخدامه مرة أخرى.
.٨	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعداد لاعادة الوزن وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ملاحظة	استخدم زجاجات الساعة عند الحاجة لوزن المركبات الترابية والبلورية وزجاجات الوزن محكمة الاغلاق لوزن السوائل وأطرح وزنها فارغة من وزنها مليئة.	للحفاظ على كفة الميزان نظيفة وضع تفاعلها مع المركبات الأخرى.

الكفايـــة العمليـــة -١٤٦-

معايرة الفيتامين جـ في عينات الدم والبول

الـــهدف :

أن يكون الطالب قادرا علـــى معـــايرة الفيتـــامين جـــ فـــي عيناتـــه.

المبـــدأ :

يقـــاس تركـــيز الفيتـــامين ج فـــي عينـــات الـــدم أو البـــول بطريقـــة معـــايرة المعقـــدات حيـــث يقـــوم الفيتـــامين بـــاختزال صبغـــة 2.6 dichloroindophenol الزرقـــاء الـــى مركـــب معقـــد عديـــم اللـــون. تتمثل قطرة النهاية بظهور اللـــون الـــوردي الـــذي يـــدوم فـــترة زمنيـــة قصـــيرة.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- أنـــابيب اختبـــار ١١٠×١٠ملـــم
- جهاز طـــرد مركـــزي.
- سحاحة أو ماصة ســـعتها ٢ملـــل وحساســـيتها لا تزيـــد عـــن ٠,٠٥ ملـــم.
- ماصات زجاجيـــة وماصـــات اوتوماتيكيـــة بســـعات مختلفـــة.
- محلـــول المعـــايرة 2.6 dichloroindophenol محلـــول وتركـــيزه حوالـــي ١٠ ملغم/دل بحيـــث يعـــاير ١ ملـــل مـــن المحلـــول مـــع ١ ملـــل مـــن المحلـــول القياســـي.
- محلـــول قيـــاس لفيتـــامين ج تركـــيزه ١٠٠ ملغـــم/دل.
- محلـــول ١٠% ثلاثـــي كلوريـــد حـــامض الاســـتيتيك.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أمـــزج ١ ملـــل مـــن دم مجمـــوع علـــى الأوكســـلات مـــع ١ ملـــل مـــاء مقطـــر في أنبـــوب ١١٠ × ١٠ملـــم.	للحصـــول علـــى محلـــول دم بعـــد تحلـــل الخلايـــا الحمـــراء بفعل الخاصيـــة الأســـموزية.
٢.	أضـــف الـــى محلـــول الخلايـــا الحمـــراء المتحللـــة ٢ ملـــل مـــن محلـــول ١٠% ثلاثـــي كلوريـــد حـــامض الاســـتيك وأمزج الخليـــط جيـــدا.	لترســـيب بروتينـــات الـــدم تمهيدا لفصلـــها.
٣.	عـــرض محتويـــات الأنبـــوب للطـــرد المركـــزي بســـرعة ٣٠٠٠ د/د لمـــدة ١٠ دقـــائق.	لفصـــل الخليـــط الـــى راســـب مـــن البروتينـــات والطـــافي الصـــافي.
٤.	ضع ٣ ملل من الطافي الصافي في أنبـــوب اختبار مميز بالعلامةT لمعايرتها بمحلـــول	لمعرفة حجـــم محلـــول المعـــايرة اللازم لأكسدة الفيتامين في العينةT

	المعايرة من سحاحة سعتها ٢ ملل حتى ظهور اللون الوردي الذي يبقى ثابتا لمدة ٣٠ ثانية على الأقل.	
٥.	ضع في أنبوب ثان مميز بالعلامة S ١ ملل ماء مقطر واستبدل ٠,٠١ منه بـ ٠,٠١ من المحلول القياسي لفيتامين ج الذي تركيزه ١٠٠ملغم/دل وأضف للخليط ٢ملل ١٠% ثلاثي كلوريد حامض الاستيك وقم بمعايرة الخليط بمحلول المعايرة كما في الخطوة السابقة.	لمعرفة حجم محلول المعايرة اللازم لأكسدة الفيتامين ج الموجود في المحلول القياسي.
٦.	وضع في أنبوب ثالث مميز بالعلامة B١ ملل ماء مقطر و٢ملل من محلول ١٠% ثلاثي كلوريد حامض الاستيك وعاير الخليط بمحلول المعايرة كما في الخطوات السابقة.	لمعرفة حجم محلول المعايرة الذي يمكن أن يختزل بفعل ثلاثي كلوريد حامض الاستيك.
٧.	طبق المعادلة التالية: $\frac{\text{المعايرة الأولى – المعايرة الثالثة}}{\text{المعايرة الثانية – المعايرة الثالثة}} \times \frac{٤}{٣}$	لمعرفة تركيز فيتامين ج في عينة الدم معبرا عنها بالملغم/د ويقدر بـ ٠,٨ – ١,٥ ملغم/دل في البلازما الطبيعية.
٨.	خفف الطافي الصافي لعينة البول الطازجة بنسبة ١:٥ وعالج العينة المخففة بنفس الخطوات السابقة.	لمعرفة تركيز الفيتامين ج في البول معبرا عنه بالملغم/دل. يخرج ما يعادل ٢-٥ ملغم فيتامين ج عن طريق البول خلال ٢٤ ساعة.
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الفصل الثامن

التحليل الكيميائي الآلي

Instrumental Chemical Analysis

الكفاية العملية -١٤٧-

اختيار الموجة الضوئية في التحليل الطيفي

المبدأ :

تعتبر الموجة الضوئية مناسبة لقياس تركيز المركب إذا كانت امتصاصية مشتقاته للطاقة الضوئية عليها أعلى من امتصاصيتها على بقية الموجات وتتناسب طرديا مع التركيز على مدى يناسب القيم المتوقعة للعينات .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- ماصات زجاجية وماصات أتوماتيكية .
- أنابيب اختبار .
- جهاز طرد مركزي عند الحاجة .
- حمام مائي بمنظم حراري عند الحاجة .
- المحاليل الكيميائية اللازمة لمعالجة المركب المستهدف في العينات باجراءات كيميائية أو فيزيائية للحصول على أحد مشتقاته التي يمكن قياس امتصاصيتها .
- جهاز تحليل طيفي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استذكر جميع التعليمات الخاصة بالتجربة .	للتقيد بها أثناء تنفيذ الاجراءات المناسبة .
٢.	عالج حجم مناسب من المحلول القياسي بالاجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات المقترحة .	للحصول على محلول صافي لأحد مشتقات المركب المطلوب قياس تركيزه .
٣.	قم بقياس امتصاصية المحلول الناتج من الخطوة السابقة للطاقة الضوئية على جميع الموجات الضوئية من ٤٠٠-٧٠٠ مميك بشكل تصاعدي	لتمثيل العلاقة بين طول الموجة الضوئية (المحور السيني) وامتصاصية المحلول للضوء (المحور الصادي) بخط بياني .
٤.	تفحص شكل الخط البياني وحدد الموجات الضوئية المقابلة لقمم الخط البياني	لأن امتصاصية المحلول للطاقة الضوئية على القمم أعلى من امتصاصيته للطاقة الضوئية على بقية الموجات الضوئية الأخرى .
٥.	حضر عدد من المحاليل القياسية للمادة المطلوب قياس تركيزها بحيث تشمل أقل وأعلى تركيز للمادة متوقع ظهوره في العينات.	للتأكد من أن الموجة الضوئية المقترحة مناسبة لجميع القيم الممكن توقعها في العينات.
٦.	عالج المحاليل القياسية المحضرة في الخطوة السابقة بالاجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات المقترحة .	لتحضير محاليل مناسبة لمشتقاتها تمهيدا لقياس امتصاصيتها .

.٧	قم بقياس امتصاصية المحاليل الصافية لمشتقات المحاليل القياسية التي تم الحصول عليها على الموجات الضوئية المحددة بالخطوة الرابعة .	لتمثيل العلاقة بين تركيز المحاليل القياسية (المحور السيني) وامتصاصيتها للضوء (المحور الصادي) بخط بياني .
.٨	تفحص الخط البياني بامتصاصية المحاليل القياسية على الموجات الضوئية المحددة .	لاعتماد الموجة الضوئية التي يكون خط امتصاصية المحاليل القياسية عليها مستقيما ويمر من قطرة الصفر ويغطي جميع القيم المتوقعة في العينات .
.٩	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها .	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع .

الكفاية العملية -١٤٨-

تحديد مدى القياس في تجارب التحليل الطيفي (Linearity)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحديد مدى القياس (Linearity) في تجارب التحليل الطيفي.

المبدأ :

يقصد بمدى القياس في أي تجربة بأنه أعلى قيمة للنتائج يمكن اعتمادها والوثوق بها دون الحاجة الى إعادة التجربة على عينة مخففة مع الأخذ بعين الاعتبار معامل التخفيف عند حساب النتيجة.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مجموعة المحاليل اللازمة لقياس تركيز المركب س.
- ماصات اوتوماتيكية وأخرى زجاجية بسعات مناسبة.
- ١٠محاليل قياسية للمركب س بحيث تكون متفاوتة التركيز بشكل تصاعدي ومنتظم وتغطي كافة القيم المتوقع ظهورها في العينات.
- أنابيب اختبار.
- حمام زيت مائي عند اللزوم.
- جهاز تحليل طيفي.
- جهاز طرد مركزي عن اللزوم.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	استذكر جميع التعليمات الخاصة بالتجربة.	للتقيد بها أثناء تنفيذ خطوات التجربة.
.٢	رقم المحاليل القياسية من ١-١٠ بتركيز تصاعدي وطبق خطوات التجربة عليها.	للحصول على محاليل قياسية لأحد مشتقات المركب س يمكن قياس امتصاصيته للضوء.
.٣	استخدم جهاز التحليل الطيفي اللوني في قياس امتصاصية المحاليل الناتجة عن تطبيق خطوات التجربة على المحاليل القياسية.	لمقارنة تركيز المحاليل القياسية مع امتصاصيتها للضوء.
.٤	مثل العلاقة بين تركيز المحاليل القياسية وامتصاصيتها للضوء بخط بياني بحيث يثبت تركيز	لمعرفة طبيعة العلاقة بين تركيز المحلول وامتصاصيته للضوء.

	المحاليل على المحور السيني والامتصاصية على المحور الصادي.	
٥.	تعرف على شكل الخط البياني بعد انجازه في الخطوة السابقة.	لإعتماد نتائج التجربة المطابقة للجزء المستقيم منه كمدى القياس الخاص بالتجربة.
٦.	حدد تركيز المحلول القياسي الذي يطابق قطرة انحناء الخط البياني.	لاعتماده كحد أعلى لمدى القياس وهو أعلى قيمة للنتيجة يمكن اعتمادها والوثوق بها دون الحاجة الى اعادة خطوات التجربة على العينة بعد تخفيفها بشكل مناسب.
٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع السلامة والبيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٤٩-

الاستشراب الورقي أحادي وثنائي الأبعاد

الــــهدف :

أن يكــون الطـــالب قـــادرا علـــى اســـتخدام الاستشـــراب الورقـــي بنوعيـــة أحـــــادي وثنـــائي الأبعـــاد فـــي فصـــل الســـكريات أو الأحمـــاض الأمينيـــة عـــــن بعضـــــها والتعرف على طبيعتـــــها ونســـبها المئويـــة.

المبـــدأ :

تتحـــرك المركبـــات المتشـــابهة مثـــل الأحمـــــاض الأمينيـــــة والســـــكريات عنـــــد مرورهـــا ف وســـط مســـامي بواســـطة تيـــار مـــن ســـائل حـــامل لـــها بســـــرعات مختلفـــة. تعتمـــد علـــى مـــدى علاقـــة كـــل منـــها مـــع الوســـط الثـــابت أو الوســـط المتحـــرك. يقـــوم الســـيليولوز (المركـــب الرئيســـي فـــي ورق الترشـــــيح) بدعـــــم وتثبيـــت الوســـط الثـــابت فـــي نظـــم الاستشـــراب الورقـــي حيـــث يكـــون الوســـــط الثابت سائلا كما هـــو الحـــال فـــي الاستشـــراب التوزيعـــي.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- أوعيـــــة استشـــــرات ورقـــــي محكمـــــة الاغـــــلاق ومناســــــبة الأبعـــــــــاد (٣٠×٢٠×٦ســــــم).
- مســـتطيلات ورق ترشـــيح مـــــن نـــــوع whatman1.3.4 طولـــــها ٥٠ ســـــم وبعرض يتناسب مـــع عـــدد العينـــات .
- مربعـــات ورق ترشـــيح مـــن نـــوع Whatman 1.3.4 طـــول ضلعها٥٠ســــم.
- محاليل فصـــــل الســـكريات والأحمـــاض الأمنيـــة:

A. n.Butanol-AceticAcid-D.Water (12/30/50)
B. n.Butanol-Pyridine.D.Water (8/6/4)
C. Isopranol-D.Water (16/4)
D. Methanol-D.Water-Pyridine (8/2/4)
E. Ethylmethylketone-Butanol-D.Water-Diethylamine (1/1/0.5/0,1)

- محاليل تحديد مواقع المركبات المفصولة:

أ. ١٠ أحجام من ١٠ ملـــل/لـــتر انيليـــن فـــي الاســـيتون + ١حجـــم حـــامض أورتوفسفوريك.

ب. ٥غم /لتر هيدروكسيد الصوديوم في الإيثانول.

ج. محلول نينهايدرين ٢غم/لتر بيوتانول.ن + ٥٠ ملل حامض الاسيتيك المركز.

هـ. نترات النحاس = ٠,٢ملل ١٠% حامض النيتريك + ١ملل كبريتـــــات نحـــاس مشبع + ١٠٠ملل الثانول.

- محاليل قياســـية مرجعيـــة مـــن الأحمـــاض الأمنيـــة أو الســـكريات المختلفـــة.
- جـــهاز قيـــاس كثافـــة ضوئيـــة Densinometer.
- قلم رصـــــاص – مســـطرة.

أ. الاستشراب الورق أحادي الأبعاد(Unidimention)

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ضع أي من محاليل الفصل أ، ب في وعاء الاستشراب الموجود فوق سطح أفقي بعمق ١,٥سم وأغلقه بإحكام لما لا يقل عن ٥ دقائق.	لتوفير اتزان بين محاليل الفصل في أسفل الوعاء وضغطها البخاري.
.٢	أرسم خطا خفيفا مستقيما وموازيا للحافة الضيقة لمستطيل ورق الترشيح وتبعد عنها مسافة ٤سم وقسمه الى أجزاء بنقط تبعد عن بعضها مسافة ٣سم.	لاستخدام النقط بين أجزاء الخط المستقيم كمواقع انطلاق العينات المختلفة حسب أرقامها.
.٣	رقم عينات البلازما أو عينات البول المطلوب التعرف على الأحماض الأمينية أو السكريات الموجودة بها.	لتمييزها عن بعضها وتحديد مواقعها في ورقة الترشيح.
.٤	ضع ١٠ ميكل من خليط الأحماض الأمينية القياسية أو السكريات القياسية فوق أول وأخر قطرة .	لتثبيت المحاليل المرجعية في مواقعها لمقارنة مواقع مكوناتها مع مواقع مكونات العينات المختلفة بعد استكمال زمن الاستشراب.
.٥	سلط على كل قطرة تيارهوائي ساخن أو اتركها بدرجة حرارة الغرفة الزمن الكافي.	كي تحف العينات والمحاليل.
.٦	كرر الخطوات ٤و٥ مرة أخرى عند اللزوم.	لزيادة تركيز المركبات المطلوب فصلها (سكريات أو أحماض مبينه) في بعض العينات وبالتالي يسهل تحديد مواقعها وقياس امتصاصيتها للضوء.
.٧	كرر الخطوات ٤و٥و٦ مع جميع العينات كل في موقعها حسب رقمها.	لتثبيت العينات في مواقع انطلاق استشرابها على ورقة الترشيح.
.٨	ثبت ورقة الترشيح داخل وعاء الإستشراب بشكل مستوي وعمودي بحيث تغمس حافتها القريبة من والموازية لخط نقط انطلاق العينات في محلول الفصل واترك الوعاء محكم الاغلاق في وضعه الأفقي فترة من الزمن (١٦-٢٠ساعة) تكفي لإقتراب مقدمة محلول الفصل من حافة ورقة الترشيح العليا.	لإستشراب أكبر كمية من محاليل الفصل في مسامات ورقة الترشيح بفعل محصلة القوى بين الخاصية الشعرية والجاذبية الأرضية وبالتالي فصل مكونات العينة عن بعضها بسبب حركتها مع تيار محلول الفصل بسرعات مختلفة.

.٩	اغمس ورقة الترشيح في محلول نترات الفضة لمدة دقيقة واحدة وجففها بتيار هواء ساخن ومن ثم اغمسها في محلول هيدروكيد الصوديوم وجففها مرة أخرى بالهواء الساخن في حالة فصل السكريات أو أغمس ورقة الترشيح في محلول نينها يدرين لمدة دقيقة واحدة وجففها ومن ثم أغمسها في محلول نترات النحاس في حالة فصل الأحماض الأمنية.	لتحديد مواقع السكرايات أو الأحماض الأمينية بعد فصلها عن بعضها في ورقة الترشيح عن طريق تحويلها الى مشتقاتها الملونة والتي تظهر دائرة إذا كانت تمثل مركبا نقيا وبيضاوية (طويلة) إذا كانت تمثل أكثر من مركب.
.١٠	قم بقياس المسافة التي قطعتها مقدمة محاليل الفصل والمسافات التي قطعها مراكز المواقع الجديدة للمركبات المفصولة من خط الانطلاق للعينات التي ظهرت جميع مواقع مكوناتها دائرة بشكل منتظم، أما العينات التي ظهرت بعض مكوناتها بيضاوية (مستطيلة) فاعمل على إعادة فصل مكوناتها بالإستشراب الورقي ثنائي الاتجاه.	لحساب معامل فصل (RF) المركبات المختلفة والذي يساوي نسبة المسافة التي قطعها مركز أي مركب إلى المسافة التي قطعتها مقدمة محلول الفصل من خط الانطلاق.
.١١	قارن بين معاملات فصل مركبات كل عينة ومعاملات فصل العينات القياسية المرجعية.	لتحديد هوية مركبات العينة التي تم فصلها عن بعضها.
.١٢	مرر مركز موقع كل مركب مفصول في مسار ضوء جهاز قياس الامتصاصية.	لقياس إمتصاصية المركب المفصول مع امتصاصه ورق الترشيح للضوء T.
.١٣	مرر أي بقعة في ورقة الترشيح تعرضت لمحاليل الفصل وبعيدا عن مواقع المركبات المفصولة في مسار الضوء في جهاز قياس الامتصاصية.	لقياس امتصاصية ورقة الترشيح (F).
.١٤	أطرح الامتصاصية F من الامتصاصية T .	لمعرفة امتصاصية كل مركب للضوء واستخدامها في حساب نسبته المئوية عن طريق ضرب النسبة بين امتصاصيته للضوء

		ومجموع امتصاصية جميع المركبات المفصولة في ١٠٠.
.١٥	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى اماكن حفظها.	استعداد لإعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ب. الاستشراب الورقي ثنائي الأبعاد

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ضع أي من محاليل الفصل أ،ب في وعاء الاستشراب الموجودة على سطح أفقي بعمق ١,٥سم وأغلقه بإحكام لمدة خمس دقائق على الأقل.	لتوفير الإتزان بين محاليل الفصل في أسفل الوعاء وضغطها البخاري.
.٢	أرسم خطين مستقيمين ومتعامدين قرب أحدى زوايا ورقة ترشيح مربعة بحيث يبعد كل خط عن ضلع الزاوية الموازي له مسافة ٤سم وجهز ورقة ترشيح مربعة أخرى للعينة القياسية المرجعية.	لاعتماد قطرة تقاطع الخطين المتعامدين موقع انطلاق العينة التي لوحظ بعد تعريضها للاستشراب أحادي الاتجاه بأن موقعها بيضاويا وليس دائريا لأنها تمثل أكثر من مركب معاملات فصلها متقاربة.
.٣	ضع ١٠ ميكل من العينة المطلوب فصلها في قطرة الإنطلاق بواسطة ماصة اوتوماتيكية وسلط عليها تيار هواء ساخن كرر نفس الخطوة عند اللزوم.	لتثبيت مكونات العينة في موقع الانطلاق عن طريق تجفيفها وزيادة تركيزها إذا كانت مخففة.
.٤	ثبت ورقة الترشيح داخل وعاء الاستشراب الأفقي بشكل عمودي ومستوى بحيث تغمس حافتها القريبة والموازية لأحد الخطين المتعامدين في محلول الفصل وأترك الوعاء محكم الاغلاق في وضعه الأفقي فترة من الزمن (١٦ – ٢٠ ساعة) تكفي لإقتراب مقدمة محلول الفصل من الحافة الموازية العليا لورقة الترشيح بمسافة لا تقل عن ٥سم.	لاستشراب أكبر كمية من محلول الفصل في مسامات ورقة الترشيح بفعل محصلة القوى بين الخاصية الشعرية والجاذبية الأرضية وبالتالي فصل مكونات العينة عن بعضها بسبب حركتها مع تيار محلول الفصل بسرعات مختلفة.
.٥	إفتح وعاء الاستشراب وأخرج ورقة الترشيح وأضغطها بين ورقتين متماثلتين وحدد موقع	للتخلص مما يحمله من محاليل الفصل وتثبيت المركبات المفصولة في

	مقدمة محلول الفصل بالرصاص ومن ثم عرضها التيار هواء ساخن.	مواقعها الجديدة بتجفيفها.
٦.	أعد تثبيت ورقة الترشيح في وعاء استشراب أخر في أسفله محلول فصل آخر (ج،د،هـ ...) بشكل مستوي وعمودي بحيث تغمس حافتها القريبة والموازية للخط المستقيم الثاني في محلول الفصل واترك الوعاء في وضعه الأفقي محكم الإغلاق لمدة (١٦-٢٠ ساعة) تكفي لاقتراب مقدمة محلول الفصل من الحافة العليا لورق الترشيح بمسافة لا تقل عن ٥سم.	لاستشراب أكبر كمية من محاليل الفصل بفعل محصلة القوى بين الخاصية الشعرية والجاذبية والأرضية باتجاه عمودي لاتجاه استشراب محلول الفصل الأول وبالتالي تحريك مكونات العينة بسرعات تختلف عن سرعات حركتها في الاستشراب الأول.
٧.	نفذ خطوات ١٠ و ١١ الخاصة الاستشراب الورقي أحادي الأبعاد.	لتحديد المواقع الجديدة لمكونات العينة.
٨.	قم بقياس المسافة التي قطعتها مقدمات محلول الفصل ومكونات العينة ومركبات العينة القياسية من خطي انطلاقها في كل مرحلة على حدة.	لحساب معاملي فصل (Rf_1وRf_2) لكل من المركبات المفصولة وفي العينة القياسية.
٩.	قارن بين معاملات الفصل الخاصة بمركبات العينة ومعاملات الفصل الخاصة بمركبات العينة القياسية المرجعية.	لتحديد هوية مركبات العينة التي تم فصلها عن بعضها.
١٠.	نفذ الخطوات ١٢و١٣و١٤و١٥ الخاصة بالاستشراب الورقي إحادي الاتجاه.	لمعرفة النسبة المئوية لكل مركب في العينة استعدادا لإعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٥٠-

تحضير وحدة الترحيل الكهربائي بهلام الأجار

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير وحدة الترحيل الكهربائي بهلام الأجار وملحقاتها كي يمكن استخدامها في فصل البروتينات ومشتقاتها في أي وقت عند الحاجة.

المبدأ :

يتم تحضير محلول الأجار أو الأجاروز عن طريق التسخين في المحلول المنظم المنوي استخدامه في عملية الترحيل الكهربائي للبروتينات أو مشتقاتها ويسكب في خلية الترحيل لتحضير دعامات الأجار وحول الشرائح الزجاجية لتحضير شرائح هلام الأجار.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مسحوق أجار أو أجاروز.
- محلول منظم قلوي برقم هيدروجين ٨,٤-٨,٦ (منظم الباربيتون أو البورات).
- أو محلول منظم حامض برقم هيدروجيني ٦ -٦,٥ (منظم الفسفات السترات).
- دوارق كروية أو مخروطية سعة ٥٠٠ ملل.
- شرائح زجاجية يزيد طول أحد بعديها قليلا عن عرض حجرة الوسط الناقل في الخلية.
- اطباق بقواعد مستوية ومحكمة الأغلاق (مثل اطباق بتري)
- ميزان
- سخان كهربائي.
- خلية ترحيل كهربائي

أ. تحضير دعائم الأجار في خلية الترحيل الكهربائي

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تفحص خلية الترحيل الكهربائي بهلام الأجار.	للتعرف على حجراتها الطولية والمتوازية وهي كما يلي: ١.٥ حجرات الأقطاب الكهربائية البلاتينية أو الكربونية وهي في نفس الوقت حجرات المحاليل

		المنظمة والتي تفصلها عن حجرات دعائم الأجار ٢و٤ حواز مسامية أو غير كاملة في حين تفصل حجر دعائم الأجار عن الحجرة الوسطى (٣) حواجز متواصلة وغير مسامية تستخدم الحجرة ٣ للوسط الناقل وهي أكثر سعة من بقية الحجرات.
٢.	أملأ الحجرات ١و٢و٤و٥ بالماء المقطر ومن ثم اسكب الماء المقطر في مخبار مدرج.	لقياس سعة الحجرات الأربعة المشار لها.
٣.	أحسب وزن كمية مسحوق الأجار اللازمة لتحضير كمية ٢% من محلوله بحيث تزيد ١٠٠ ملل عن سعة الحجرات ١و٢و٤و٥ وأذبها بالتسخين في الحجم المطلوب من المحلول المنظم الذي يحتوي على ٠,٠٥ من Podium Azide	لتحضير محلول ٢% هلام الآجار في المحلول المنظم واللازم لتحضير دعائم الأجار في الحجرات ٢و٤ والمقاوم للنمو الفطري والجرثومي.
٤.	أملأ الحجرات ١و٢و٤و٥ بمحلول ٢% هلام الأجار الساخن عندما تكون خلية الترحيل الكهربائي في وضع أفقي بحيث سطح الأجار عن حافة الحواجز الفاصلة بين الحجرات ٢و٤ عن الحجرة ٣ بفعل خاصية التوتر السطحي واتركه حتى يتجمد بدرجة حرارة الغرفة.	للحصول على دعائم أولية صلبة من ٢% هلام الأجار.
٥.	استخدام سكينا أو شوطا في تفريغ حجرات الأقطاب ١و٥ من هلام الأجار الصلب.	لملئ حجرات الأقطاب بالمحلول المنظم المستخدم في تحصين دعائم الأجار وفي الترحيل الكهربائي.
٦.	ضع على سطحي دعائم الأجار في الحجرات ٢و٤ ورق ترشيح تناسب أبعادها.	لتثبيت الوسط الناقل عليها ومنع إنزلاقه أثناء عملية الترحيل.
٧.	أملأ حجرات الأقطاب بالمحلول المنظم بحيث لا يتجاوز سطحه دعائم الإجار الى حجرة الوسط الناقل ٣ وأغلق غطاء الخلية بإحكام.	لمنع جفاف وتقلص دعائم الإجار أثناء حفظها استعدادا لاستخدامها في الترحيل الكهربائي عند الحاجة.

ب. تحضير الوسط الناقل الخاص لترحيل الكهربائي بهلام الأجار

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	قرر بناءا على حجم العمل وعدد العينات عدد شرائح الأخبار المراد تحضيرها.	لمعرفة حجم محلول ١% هلام اجار اللازم لتحضير شرائح الاجار.
٢.	أحسب وزن كمية الأجار اللازمة لتحضير الحجم اللازم من محلول ١% اجار وأذبها بالتسخين في الحجم المطلوب من المحلول المنظم الذي يحتوي على ٠,٠٥% Sodium Azide.	لتحضير محلول ١% هلام الأجار السائل والخالي من الفقاعات الهوائية والمقاوم للنمو الفطري والجرثومي.
٣.	وزع عددا كافيا من الأطباق على سطح أفقي واسكب فيها من محلول ١% هلام الأجار الساخن ما يكفي ليغمر قواعدها واتركها في هذا الوضع حتى اكتمال تحضير الشرائح.	لضمان وجود سطوح أفقية تحمل الشرائح الزجاجية.
٤.	ثبت فوق سطح طبقة الأجار في قواعد الأطباق بعد انجمادها العدد المناسب من الشرائح الزجاجية واغمرها بطبقة من محلول ١% هلام آجار ساخن وخالي من الفقاعات ويرتفع سطحه عن سطح الشرائح الزجاجية بـ ١-٢ ملم واترك الأطباق في مكانها دون حراك حتى انجماد هلام الأجار.	لضمان وجود طبقة هلام ١% اجار متجمدة بسمك ثابت ومنتظم (١-٢ملم) فوق سطح الشرائح الزجاجية.
٥.	أغلق أطباق هلام الآجار بشكل محكم واحفظها بدرجة ٤م أو بدرجة حرارة الغرفة مقلوبة لمدة غير محدودة.	لمنع جفافها ولمنع تجمع البخار على غطار الأطباق.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا الإعادة التحضير وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايــــة العمليـــــة -١٥١-

الترحيل الكهربائي للبروتينات ومشتقاتها

الـــــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى فصـــل البروتينــــــات ومشـــــتقاتها كالأنزيمــــــات والـــــهيموجلوبينات والبروتينـــات الدهنيـــة والنشـــــوية عــــن بعضـــــها بواســـــطة الـــترحيل الكـــــهربائي.

المبــــدأ :

عند وجود عــــدد مــــن البروتينـــات فـــي وســـط مـــا فـــإن بعضـــها يحمـــل شـــحنات كهربائيـــة موجبـــة وبعضـــها الأخـــر ســـالبة أو متعادلـــة حســـب علاقـــــة الرقـــــم الــــهيدروجيني للوســـط مـــع الرقـــم الـــهيدروجيني الخـــاص بتعادلــــــها الكـــــهربائي. لـــذا فانـــها تتحـــرك بســـرعات مختلفـــة نحـــو القطـــب الموجـــب او السـالب عنـــــد تعرضها لتيـــــار كـــهربائي مباشـــر أو تبقـــى ســـاكنة حســـب طبيعـــة وقـــوة الشـــحنة الكهربائيـــة التـــي تحملـــها جزيئـــات الـــبروتين. يصنـــف الـــترحيل الكـــهربائي بنـــاءا علـــى طبيعـــة الوســـط النـــاقل الـــى أنـــواع مختلفـــة مثـــل الـــــترحيل الكــــــهربائي باســـيتات الســـيليولوز والـــترحيل الكـــهربائي بـــهلام الاجـــار الـــخ. تحـــدد مواقـــــع البروتينـــات بعـــد فصلـــها عـــن بعضـــــها بالصبغـــــات المناســـــبة أو التفـــاعلات الكيميائية المناســـــبة.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- مصدر تيـــار كـــهربائي مباشـــر.
- خلية ترحيل كـــهربائي تناســـب الوســـط النـــاقل (هـــلام الاجـــار).
- اوساط ناقلـــة (شـــرائح هـــلام الاجـــار أو اســـيتات الســـيليولوز).
- محاليل منظمــــة بأرقـــام هيدروجينيـــة مناســـبة (٨,٤ مثـــلا).
- محـــاليل تحديـــد مواقـــــع البروتينـــــات المفصولـــــة (صبغـــــة بروموفينـــــول الزرقـــاء)
- محاليل غسل الأوساط الناقل < (حامض الاستيتك ٥%).
- أدوات تثبيت العينات في مواقع الانطلاق في الوسط الناقل (تشمل ملاقـــط بلاســـتيكية ومستطيلات ورق ترشيح ٥×١ملم
- مشارط حـــادة لانـــتزاع شـــرائح الأجـــار.
- احواض صبـــغ وغســـل الأوســـاط الناقلـــة.
- جـــهاز لقيـــاس امتصاصيـــة الضـــــوء (Densinometer).

أ. فصل بروتينات المصل بالترحيل الكهربائي بهلام الآجار

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أملأ حجرات الأقطار في خلية الترحيل بالمحلول المنظم وأعد الغطاء الى موقعه لمدة لا تقل عن ٥ دقائق.	للوصول الى اتزان بين المحاليل المنظمة وضغطها البخاري.
٢.	أقطع بواسطة المشرط وسط الآجار بمحاذاة حواف الشرائح الزجاجية واستخدم المشرط في نزعها من الآجار.	للحصول على شرائح الآجار المحضرة في المحلول المنظم كوسط ناقل.
٣.	اقطع حواف شريحة هلام الآجار بقطع منتظم وبعمق ١ملم وابتر إحدى الزوايا بعمق ١ملم وتخلص من هلام الآجار المقطوع.	لتسهيل التعامل مع شرائح الآجار بواسطة اليد من خلال حواف الشرائح الزجاجية دون لمس الآجار ولاستخدام الزاوية المبتورة لتحديد موقع العينة الأولى في شريحة الآجار.
٤.	قم باحداث قطع طوله ٥ ملم في عدة مواقع على خط مستقيم مواز لأحدى الحواف ويبعد عنها مسافة تساوي ٤ أضعاف بعده عن الحافة المقابلة بحيث يبعد كل موقع عما يجاوره مسافة ١سم.	لاستخدام القطع في تثبيت قطع ورق الترشيح الطولية المشبعة بالعينات.
٥.	أغمس مستطيلات أوراق الترشيح طولها ٥ملم وعرضها سمك شرائح الآجار (١ملم) بواسطة ملقط في العينة وارفعها في الهواء حتى تجف قليلا وتصبح مرطبة بالعينة.	لتثبيت كمية العينة المستخدمة في الترحيل ولزيادة حدة الفصل بين البروتين ولانقاص زمن الترحيل.
٦.	أغرز مستطيلات ورق الترشيح مرطبة بالعينات في مقاطعها المناسبة حسب رقم العينة بحيث ترقم العينة القريبة من الزاوية المبتورة برقم ١.	لتثبيت العينات في مواقعها في شرائح الاجار.
٧.	أفتح غطاء خلية الترحيل بهلام الآجار وضع الشرائح داخلها مقلوبة بحيث يلامس هلام الشرائح ورق الترشيح الذي يغطي دعائم الآجار في الخلية على أن تكون العينات أقرب الى القطب السالب ثم أعد غطاء الخلية.	لتثبيت الواسط الناقل الذي يسمح باكتمال الدورة الكهربائية بين القطبين ولتوفير أكبر مسافة يمكن أن تقطعها بروتينات العينة نحو القطب الموجب لأنها تحمل شحنات سالبة عندما

		يكون الرقم الهيدروجيني للوسط الناقل ٨,٤.
.٨	أوصل التيار الكهربائي المباشر بقوة مناسبة ولفترة زمنية مناسبة (٧ميلي أمبير /سم لمدة ٢٠ –٣٠ دقيقة) تعتمد قوة التيار وزمن وصله على ابعاد الخلية والوسط الناقل).	لتحريك بروتينات المصل باتجاه القطب الموجب بسرعات مختلفة لأنها تحمل شحنات سالبة.
.٩	أفصل التيار الكهربائي المباشر بعد انقضاء زمن الترحيل.	لايقاف حركة البروتينات بعد فصلها عن بعضها على مدى ما يسمح به طول الوسط الناقل.
.١٠	أنقل شرائح الآجار من خلية الترحيل الى حوض الصبغة (صيغة Bromopenol Blue) بعد نزع مستطيلات ورقات الترشيح من مواقعها واتركها لما لا يقل عن ساعتين.	لتثبيت البروتينات في مواقعها وتحديد تلك المواقع عن طريق مفاعلة البروتين الصبغة.
.١١	أنقل شرائح الآجار من حوض الصبغة الى حوض الغسيل (٥%حامض الاستيتك) لمدة ساعتين.	لتخليص الوسط الناقل من الصبغة الفائضة عن حاجة التفاعل مع البروتينات.
.١٢	أخرج شرائح الآجار وضعها فوق ورقة ترشيح على سطح مستو وضع فوقها شريحة زجاجية ضاغطة واتركها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.	لطرد معظم ماء الوسط الناقل الى ورقة الترشيح وتثبيت الوسط الناقل على شكل طبقة دقيقة جدا على سطح الشريحة الزجاجية لتدعيمه.
.١٣	أفصل الشريحة الزجاجية التي تحمل الوسط الناقل عن ورقة الترشيح واتركها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.	كي يتم التخلص من ماء الوسط الناقل بشكل كامل.
.١٤	قارن بين مواقع البروتينات المفصولة ومواقع بروتينات عينة مرجعية طبيعية تم فصلها في نفس الوقت.	للتعرف على أنواع البروتينات التي تم فصلها عن بعضها.
.١٥	قم بمسح شامل لجميع البروتينات المفصولة بواسطة جهاز قياس الامتصاصية الضوئية بإدخال	لقياس امتصاصية كل بروتين للضوء (A) ومعرفة نسبته المئوية

	الشريحة الزجاجية بسرعة ثابتة ومنتظمة في المسار الضوئي.	بالنسبة لبقية البروتينات كما يلي: امتصاصية البروتين × ١٠٠ / مجموع امتصاصية البروتينات
١٦.	قم بقياس تركيز جميع البروتينات في العينة بطريقة بايوريت Biuret.	لمعرفة تركيز كل بروتين من بروتينات المصل (البومين وجلوبيولين (الفا وبيتا وجاما) على حدة بضرب النسبة المئوية للبروتين في تركيز جميع بروتينات العينة.
١٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٥٢-

استخدام التحليل الطيفي اللوني

(Colorimetric Spectrophotometry)

في قياس تركيز كل من الجلوكوز والبروتين والكوليستيرول والجليسيريدات الثلاثية والبولينا والبتليروبين وحامض البوليك والكلور والكالسيوم والحديد والهيموجلوبين والكريتنين والفسفور ... الخ

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى اســـتخدام طـــرق التحليـــل الكيميـــــائي الطيفـــي اللوني فـــي قيـــاس تركـــيز المركبـــات المشـــار إليـــها اعـــلاه فـــي ســـوائل الجســـم المختلفـــة مثـــل المصـــل أو البـــول وســـائل النخـــاع الشـــوكي وســـوائل الأغشـــــية الداخليـــة.

المبـــدأ :

تعـــالج أحجـــام متســـاوية مـــن المـــاء المقطـــر والمحلـــول القياســـي والعينـــة بعـــــدد من الاجــــراءات الكيميائيـــة والفيزيائيـــة اللازمـــة للحصـــول علـــى محلـــول صـــافي لأحد المشـــتقات الملونـــة للمركـــب المطلـــوب قيـــاس تركـــيزه بحيـــث يمكـــن قيـــاس امتصاصيته للضـــوء بجـــهاز التحليـــل الطيفـــي.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- جهاز التحليـــل الطيفـــي اللونـــي.
- ماصـــات زجاجيـــة وماصـــات اوتوماتيكيـــة.
- أنابيب اختبـــار نظيفـــة وجافـــة.
- جهاز طرد مركـــــزي (عنـــد الحاجـــة).
- حمام مائي بمنظـــم حـــراري (عنـــد الحاجـــة).
- المحـــاليل الكيميائيـــة اللازمـــة لمعالجـــة المركبـــات المطلـــوب قيـــاس تركيزهـــــا فـــي العينـــات بـــاجراءات كيميائيـــــة أو فيزيائيـــــة للحصـــــول علـــــى احـــــد المشتقات التـــي يمكـــن قيـــاس امتصاصيتـــها.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اســـتذكر جميـــع التعليمـــــات الخاصـــــة بالتجربة (النشـــــرة).	للتقيـــد بـــــها أثنـــــاء تنفيـــذ الاجـــراءات المناســـبة.

٢.	أوسم انابيب اختبار مناسبة نظيفة وجافة بعدد العينات ١-٢-٣...الخ وأوسم انبوبة بالحرف B للبلانك واخرى بالحرف S للمحلول القياسي.	لاستخدامها في معالجة العينات والمحلول القياسي بالاجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات.
٣.	عالج احجام متساوية من العينات والمحلول القياسي والماء المقطر (بلانك) بالإجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات في انابيبها.	للحصول على محلول صافي لاحد المشتقات الملونة للمركب المطلوب قياس تركيزه الذي يمكن قياس امتصاصيته للضوء.
٤.	أوصل التيار الكهربائي لجهاز التحليل الطيفي.	لتزويده بالطاقة الضوئية اللازمة.
٥.	قم باختيار الموجة الضوئية حسب التعليمات.	لتناسب الطاقة الجزيئية الداخلية للمشتقات الملونة للمادة المطلوب قياس تركيزها.
٦.	قم باختيار الامتصاصية كوظيفة لجهاز التحليل الطيفي.	تمهيدا لقياس الأمتصاصية للعينات والمحلول القياسي.
٧.	اغسل انبوبة الجهاز (الكوفيت) بالماء المقطر ومن ثم بقليل من محلول البلانك بدون لمسها من نصفها السفلي.	للتأكد من نظافة الأنبوبة وعدم تراكم اية رواسب خارجية قد تعيق مرور الضوء.
٨.	أملأ الكوفيت حتى نصفها بمحلول البلانك بعيدا عن الجهاز وتجنب تدفق المحلول خارج الفتحة وضعها في الجيب الخاص بها في جهاز التحليل واغلق غطاءه.	لتعريض سطح المحلول للطاقة الضوئية المناسبة بشكل عمودي بدون أي تدخل من الرواسب الخارجية على سطح الكوفيت ولتجنب تدفق المحاليل على الجهاز.
٩.	أضبط صفر الامتصاصية عندما يكون محلول البلانك في انبوبة الجهاز.	للتخلص من امتصاصية المحاليل المستخدمة في معالجة العينات والمحلول القياسي.
١٠.	فرغ الانبوبة من محلول البلانك واملأها حتى النصف بالمحلول القياسي كما في الخطوة (٨) بعد غسلها بقليل منه واقرأ امتصاصيته للضوء.	للتأكد من صلاحية المواد والأدوات واستخدام الامتصاصية في عمليات الحساب أحيانا.
١١.	قم بقياس الكثافة الضوئية للعينات حسب ترتيبها بنفس طريقة قياس الكثافة الضوئية للمحلول القياسي.	لمقارنة امتصاصية عينة على حدة مع امتصاصية المحلول القياسي بواسطة

		معادلة قانون لامبيرت وبير التطبيقية التالية: $Ct = \frac{Ab.t}{Ab.s} \times Cs$ حيث +C= تركيز العينة و Ab.t = امتصاصيتها للضوء و Cs تركيز المحلول القياسي و Ab.S= امتصاصيته للضوء.
١٢.	نظف الكوفيت بالماء المقطر وجففه من الخارج واعده الى جيبه وافصل التيار الكهربائي.	للمحافظة عليه وتسهيل تنظيفه عند الحاجة.
١٣.	نظف الأنابيب والأدوات الزجاجية المستخدمة وموقع العمل وتخلص من العينات بالطريقة المناسبة بعد اعتماد النتيجة واعد المحاليل الى الثلاجة.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٥٣-

استخدام التحليل الطيفي الفعال (Kinetic Spectrophotomtry

(Monotest) في قياس نشاط انزيمات (Phophastase, ASA, ALA,

CPK, LDH ...الخ)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس نشاط انزيمات G6PD ALA, CPK, LDH, ASA, Phosphatase ...الخ باستخدام التحليل الكيميائي الطيفي الفعال.

المبدأ :

يستخدم معدل التزايد أو التناقص في امتصاصية NADH للأشعة فوق البنفسجية في الدقيقة الواحدة خلال الدقائق الخمس الأولى من التفاعل في قياس نشاط الأنزيم دون الحاجة إلى ايقافه.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ماصات اوتوماتيكية بسعات مناسبة.
- جهاز تحليل طيفي يوفر موجات ضوئية فوق بنفسجية ٣٤٠-٣٨٠ ميمك.
- مجموعة المواد والمحاليل الاولية اللآزمة.
- حمام مائي.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	استرجع التعليمات الخاصة بالتجربة.	لتنفيذ الاجراءات اللآزمة لقياس نشاط الانزيم.
.٢	عالج المواد الاولية بالطريقة الموضحة بالتعليمات.	كي تصبح مناسبة لتنفيذ الاجراءات اللازمة لقياس نشاط الانزيم.
.٣	اختار الموجة الضوئية فوق البنفسجية (u.v) المناسبة وحدد وظيفة الجهاز بقياس الكثافة الضوئية (الامتصاصية).	لأن امتصاصية (NADH) الذي يتغير تركيزه اثناء ممارسة الانزيم لنشاطه للطاقة الضوئية اعلى ما تكون على (u.v).
.٤	اضبط صفر الكثافة الضوئية على الماء	لأن سرعة التفاعل الذي

	المقطر او الـــــهواء.	ينظمــه الانزيــم المطلــوب قيـــاس نشـــاطه لا تتـــأثر بامتصاصيــــة المحـــــاليل المستخدمة فـــي التجربـــة.
٥.	اضف حجـــم مناســـب مـــن العينـــة بواســطة الماصــــة الاوتوماتيكيــــة الــــى الحجـــــم المناســـب مـــن محلـــول اللقيـــم والمحلـــــول المنظـــم المحضـــر مـــن المحـــاليل والمــــواد الاوليـــة وقـــم بقيـــاس الامتصاصيـــة بعـــــــد فـــترة حضانـــة بدرجـــة الحـــرارة المناســـــبة لمـــدة تقـــدر بــــ ٠,٥ – ٣ دقـــائق وبعــــــد دقيقة ودقيقتيـــن وثـــلاث دقـــائق مـــن القـــراءة الاولـــي.	لمعرفـــة معـــدل التغيـــير فـــي الإمتصاصيـــة فـــي الدقيقـــة الواحـــدة والتـــي تتناســـب طرديـــــا مـــع ســـرعة التفـــاعل الـــذي ينظمـــه الانزيـــم وبالتــــالي مع نشـــاطه عندمـــا يكـــون التفاعل فـــي اعلـــى ســـرعة لـــه.
٦.	احســـب معـــــدل التغيـــير فـــي الكثافـــة الضوئيـــة فـــي وحـــدة الزمـــن بالدقـــائق A واستخدمه فـــي حســـاب نشـــاط الانزيـــم مـــن الجـــداول المرفقـــة او بضربـــــه بالمعـــــامل الموضح فـــي التعليمـــات.	لأن نشـــــاط الانزيـــــم يتناســـب تناســـبا طرديـــا مـــع معـــدل التغيـــير فـــي الامتصاصيــــة (الكثافــــة الضوئيـــة) فـــي وحـــدة الزمن (الدقيقـــة).
٧.	اعـــد الخطـــوات الخامســـة والسادســـة علـــى جميع العينات بشـــكل فـــردي.	لمعرفـــة نشـــاط الانزيـــم في بقية العينـــات.
٨.	ارجـــع المحـــاليل المعالجـــة الـــى صندوقـــها واحفظـــها فـــي الظـــروف المناســـبة ونظـــف انبوبـــة القـــراءة وافصـــل التيـــار ونظـــف مكـــان العمـــل وتخلـــص مـــن العينـــات بعـــد اعتماد النتيجـــة.	تمـــهيدا لاعـــادة التجربـــة عنـــد اللـــزوم وللحفـــاظ علـــى نظافـــة الموقـــع والادوات وســـــلامة البيئـــة.

الكفايــة العمليــة -١٥٤-

استخدام جهاز التحليل اللهبي القاذف

(Emission Flamephotometry)

في قياس تركيز كل من الصوديوم والبوتاسيوم والليثيوم ... الخ

الــهدف :

ان يكـون الطـالب قـادرا علـى اسـتخدام اجـهزة التحليـل اللـهبي القاذفـة فـي قيـاس تركـيز أي مـن ايونـات الصوديـوم والبوتاسـيوم والليثيـوم ... الـخ فـي سوائل وافـرازات الجسـم.

المبدأ :

تشـع ذرات العنـاصر كـي تسـتعيد اسـتقرارها بعـد أن تفقـده بفعـل الاحـتراق فوتونـات خاصـة بـها تقـاس بواسـطة جـهاز قيـاس لطاقـة الضوئيـة. تفقـد ذرات العنـاصر اسـتقرارها عندمـا تحـترق بعـد أن يفقـد رذاذ محاليلـها المـاء داخل اللـهب.

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـة :

- الادوات الزجاجيـة مـن ماصـات ودوارق مناسـبة مغسـولة بالمـاء المقطر او الماء الخـالي مـن الايونـات المعدنيـة .
- محلـول قياسـي او مرجعـي لايونـات الصوديـوم والبوتاسـيوم والليثيـوم .
- كمية وافرة من المـاء المقطـر او المـاء الخـالي مـن الايونـات المعدنيـة .
- جـهاز تحليـل لـهبي قـاذف مـع ملحقاتـه مـن الكـؤوس لتغذيـة الجـهاز بالسـوائل .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خفـف العينـات والمحلـول القياسـي بنفـس النسـبة المناسـبة (١:١٠٠) بمحلـول التخفيـف المناسب او المـاء المقطـر.	لانقـاص لزوجـة عينـات المصـل او البلازمـا تسـهيلا لمرورهـا مـن القنوات الشـعرية .
٢.	اوصـل التيـار الكـهربائي والـهواء المضغـوط اولا ومـن ثـم غـاز الاحـتراق وقـد اللـهب بضغـط القادحـة الكهربائيـة المزود بـها الجـهاز .	للحصـول علـى لـهب كـامل الاحـتراق بواسـطة تنظيـم نسـبة الغاز الى الـهواء المضغـوط .

الغرض	الخطوة	ت
لتنظيف القنوات الداخلية ومنع ترسب الاملاح داخلها.	زود الجهاز بالماء المقطر بشكل دائم.	٣.
لتوفير الظروف المناسبة لتحويل العينة الى رذاذ يحترق وبالتالي عدم استقرار ذرات العناصر واشعاعها للفوتونات لاستعادة استقرارها.	تأكد من احتراق اللهب بشكل كامل عن طريق تنظيم سرعة دخول الهواء المضغوط وغاز الاحتراق الى الجهاز ورؤية اللهب الازرق من خلال الفتحة المخصصة .	٤.
كي تناسب العنصر المطلوب قياس تركيزه.	اختيار الموجة الضوئية المسموح بمرورها بواسطة المرشح الخاص بالجهاز .	٥.
لمعايرة جهاز التحليل اللهبي لقياس العنصر المناسب .	استبدل الماء المقطر بمحلول تخفيف العينة اذا كان غير ماء مقطر واضبط المؤشر على صفر لوحة التدريج .	٦.
لاستكمال معايرة الجهاز تمهيدا لاستخدامه في قياس تركيز العنصر المناسب .	استبدل محلول التخفيف بالمحلول القياسي المخفف بعد غسل القنوات بالماء المقطر واضبط مؤشر القراءة المناسبة (١٠٠) في لوحة التدريج.	٧.
لمعرفة كثافة الفوتونات التي تشعها كل عينة على حدة دون تلوثها بالمحاليل السابقة لها في الترتيب .	استبدل المحلول القياسي المخفف بمحاليل العينات المخففة بالتسلسل بحيث يتم تغذية الجهاز بالماء المقطر بين المحلول السابق والمحلول اللاحق واقرأ موقع المؤشر على لوحة التدريج لكل عينة على حدة .	٨.
لمعرفة كثافة الفوتونات التي تشعها بقية العناصر في العينات السابقة كل على حدة.	اعد الخطوات ٥-٨ عند الحاجة لقياس تركيز عنصر آخر في العينات السابقة.	٩.
للتخلص من اثار المحاليل التي زود الجهاز بها ومنع ترسب املاحها للاحتفاظ بالقنوات سالكة.	استمر بالتغذية بالماء المقطر لمدة خمس دقائق بعد انتهاء قراءة موقع المؤشر لجميع العينات ولجميع العناصر المطلوب قياس تركيزها.	١٠.
لتجنب تراكم غاز الاحتراق داخل قنوات الجهاز والموقد لمنع حدوث احتراق عند اعادة استخدام الجهاز	افصل غاز الاحتراق واستمر بتزويد الجهاز بالهواء المضغوط حتى اختفاء اللهب من الموقد	١١.

	ومن ثم افصل التيار الكهربائي وضع غطاء الجهاز.	في المرات القادمة .
.١٢	نظف الادوات الزجاجية وكؤوس تغذية الجهاز بالمحاليل بالماء المقطر والموقع وتخلص من بقايا العينات بعد اعتماد النتائج.	تمهيدا لاعادة التجربة عند اللزوم والحفاظ على نظافة الموقع والادوات وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٥٥-

استخدام القطب الانتقائي الأيوني (Ion Selective Electrode = ISE) في قياس تركيز الصوديوم والبوتاسيوم والكلور.

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى اســـتخدام شـــرائح الأقطـــاب الانتقائيـــة لايونـــات الصوديـــوم والبوتاســـيوم والكلـــور فـــي قيـــاس تركيزهـــا فـــي عينـــات الـــدم والبـــول.

المبـــدأ :

يتـــألف قطـــب الإنتقـــاء الأيونـــي الصلـــب مـــن طبقـــة فضـــة مكســـوة بكلوريـــد الفضة ومغموسة فـــي طبقـــة كلوريـــد الأيـــون المطلـــوب قيـــاس تركـــيزه يتكـــون السـطح الخـــارجي للقطـــب الأيونـــي مـــن طبقـــة نفـــاذة للأيونـــات. ينشـــأ عـــن انتقـــال الايونـــات المطلـــوب قيـــاس تركيزهـــا مـــن محاليـــــها المركـــــزة فـــي العينات الى محلولـــــها المخفـــف داخـــل القطـــب مـــن خـــلال الطبقـــة النفـــاذة قـــوة دفـــع كهربائيـــة. تقـــارن قـــوة الدفـــع الكهربائيـــة الناتجـــة عـــن ترطيـــب القطـــب بالعينة مـــع قـــوة الدفـــع الناتجـــة عـــن ترطيـــب القطـــب فـــي المحلـــول القياســـي بواسطة أجـــهزة الكترونيـــة مبرمجـــة لطباعـــة تركـــيز الايـــون المطلـــوب قياســـه ونوع العينـــة ورقمـــها وتـــاريخ اجـــراء الفحـــص علـــى شاشـــة الجـــهاز أو علـــى شريط ورقـــي.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- شرائح اقطـــاب الانتقـــاء الايونـــي للصوديـــوم والبوتاســـيوم والكلـــور.
- جـــهاز مقارنـــة قـــوة الدفـــع الكهربائيـــة الخاصـــة بالعينـــة مـــع قـــوة الدفـــع الكهربائي الخاصة بـــالمحلول القياســـي مـــع كافـــة ملحقاتـــه.
- ماصة اوتوماتيكيـــة ثنائيـــة مـــع رؤوســـها المناســـبة.
- محلـــول قياســـي للصوديـــوم والبوتاســـيوم والكلـــور.
- ماء مقطـــر
- لغة ورقـــة التجفيـــف.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أوصـــل التيـــار الكـــهربائي لجـــــهاز مقارنـــة قـــوة الدفـــــع الكـــــهربائي وانتظـــر ظـــــهور كلمـــــة Ready على الشاشـــة.	لتهيئه الجـــهاز للعمـــل.

٢.	عرف الجهاز على طبيعة العينة (دم كامل أومصل أو بلازما أو بول مخفف ١:٢)	لتمكين الجهاز من التعامل العينة بشكل صحيح.
٣.	أنزع غلاف شريحة أقاطاب الأقطاب الانتقائية لأيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكلور وادخلها باتجاه السهم المثبت عليها في الفتحة المخصصة لذلك وانتظر كلمة Please Insert+Sample	كي يقوم الجهاز بالتعرف عليها من خلال شريط الرموز (Barcode) المثبت عليها.
٤.	ثبت في نهاية الماصة الاوتوماتيكية الثنائية رأسين مناسبين.	لملئ إحدهما بالعينة وملئ الأخر بنفس الحجم من المحلول القياسي.
٥.	أمسح السطح الخارجي لرؤوس الماصة الاوتوماتيكية بقطعة قماش أو ورق تواليت.	للتأكد من ثبات حجم العينة والمحلول القياسي.
٦.	ضع الماصة في موقعها في الجهاز بالوضع المناسب واضغط العينة والمحلول القياسي في نفس الوقت في المواقع المحددة لهما في شريحة الاقطاب الموجودة داخل الجهاز وارفع الماصة بعد سماع الصفرة الثانية مباشرة ودون تردد.	لترطيب الأقطاب الانتقائية الخاصة بأيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكلور بمحلول العينة والمحلول القياسي بنفس الوقت.
٧.	راقب من خلال المؤقت الجهاز في الشاشة مرور دقيقة من الزمن.	للحصول على تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم والكلور مكتوبا على الشاشة أو مطبوعا على الشريط الورقي.
٨.	استقبل شرائح الأقطاب الانتقائية بعد استعمالها من الفتحة المخصصة في الحاوية المخصصة لذلك والمثبتة أمام فتحة الخروج.	للمحافظة على نظافة الموقع.
٩.	أفصل التيار الكهربائي عن الجهاز ونظف الأدوات ومكان العم واعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعداد لاعادة التجربة عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة-١٥٦-

الكشف عن مظهر البول

(Urine Appearance)

الــهدف :

ان يكون الطـــالب قـــادرا علـــى توقـــع العوامـــل غـــير الطبيعيـــة فـــي عينـــة البـــول من مظـــهرها.

المبـــدأ :

يتميز البـــول الطبيعـــي بصفاتـــه وبلونـــه الأصفـــر البـــاهت لـــذا يســـتخدم أي تغيـــير فـــي لونـــه ودرجـــة عكورتـــه فـــي المســـاعدة علـــى تشـــخيص أمـــراض الكلـــــي والمجـــاري البوليـــة .

الادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- حاويـــة شـــفافة وعديمـــة اللـــون او دورق زجـــاجي مخروطـــي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امـــزج عينـــة البـــول فـــي حاويتـــه الشـــفافة عديمـــة اللـــــون ولاحـــظ بـــالعين المجـــردة درجـــة عكورتـــه ولونه كما يلـــي : معكر احمـــر اللـــون . معكر كريمـــي اللـــون. معكر ابيـــض اللـــون. معكر او صافي اصفـــر فـــاقع اللون الاسود قـــرب الســـطح	لمقارنـــة مظـــهر عينـــة البـــول بمظـــهر عينـــة البـــول الطبيعـــي الـــذي يتمـــيز بلونـــه الاصفـــر البـــاهت (لـــون التبـــن) وطبيعتـــه الصافيـــة . وجود خلايـــا حمـــراء وجـــود خلايـــا حمـــراء وخلايـــا بيضاء او طلائيـــة او ملحيـــة. وجـــود رواســـب ملحيـــة مثـــل الاوكســـلات او كاربونـــــات او فوســـفات او يـــورات او خلايـــا بيضاء او طلائيـــة. وجود البيلـــيروبين. وجـــود حـــامض هموجينتيســـيك (Allcaptunuria)
٢.	تكثـــف رواســـب العينـــة بـــالطرد المركزي كما هـــو مبيـــن فـــي كفايـــة فحص الرواســـب مجـــهريا.	لفحـــص الرواســـب مجـــهريا والطافي كيميائيـــا.

الكفاية العملية -١٥٧-

قياس الرقم الهيدروجيني (pH) العينة البول باستخدام الأشرطة الورقية

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام الأشرطة الورقية.

المبدأ :

تحتوي الأشرطة الورقية على مجموعة كواشف يغطي مدى فعاليتها المدى المتوقع للرقم الهيدروجيني في عينات البول وبالوان مميزة لكل رقم، يقارن اللون الناتج من غمس الشريط الورقي في عينة البول الطازجة مع جدول لوني خاص مثبت على عبوة الأشرطة.

الادوات والمواد اللازمة :

- شريط ورقي مشبع بمجموعة كواشف تختلف باختلاف الشركة الصانعة بحيث يغطي مدى فعاليتها الأرقام الهيدروجينية المتوقعة لعينات البول.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	أغمس المربع الورقي الخاص بالرقم الهيدروجيني والمثبت على الشريط بلاستيكي في عينة بول طازجة بشكل لحظي.	لإعطاء فرصة تفاعل الكواشف مع أيونات الهيدروجيني أو ON الموجودة في الوسط.
.٢	قارن ما قد يطرأ من تغيير على لون المربع الورقي الخاص بالرقم الهيدروجيني مع الجدول اللوني المثبت على عبوة الأشرطة.	لتحديد قيمة الرقم الهيدروجيني الذي يتطابق لون مربعه في الجدول مع اللون الناتج عن غمس الشريط في عينة البول.
.٣	تخلص من الشريط المستخدم ونظف الموقع وأعد الأشرطة الى مكان حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليــــة -١٥٨-

قياس الكثافة النوعية للبول Urine Specific Gravity

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى قيـــاس الكثافـــة النوعيـــة للبـــول كمؤشـــر علــــى تركـــيز المـــواد الذائبـــة فيـــه وبالتـــالي علـــى قـــدرة الكلـــى علـــى القيـــام بوظيفتـــها بشكل طبيعـــي.

المبدأ :

تتميز الكلـــى الطبيعيـــة بقدرتـــها علـــى زيـــادة تركـــيز المـــواد الصلبـــة الذائبـــة فـــي البول وبالتـــالي زيـــادة كثافتـــه النوعيـــة فـــي حالـــة عـــدم تنـــاول الســـوائل وعلـــى تخفيف المـــواد الذائبـــة فـــي البـــول وبالتـــالي إنقـــاص كثافتـــه النوعيـــة فـــي حالـــة الإفراط بشكل محســـوس فـــي تنـــاول الســـوائل تفقـــد الكلـــى قدرتـــها علـــى التحكـــم فـــي تركـــيز المـــواد الصلبـــة الذائبـــة فـــي البـــول وتبقـــى الكثافـــة النوعيـــة للبـــول ثابتـــة علـــى حوالـــي ١,٠١٠ – ١,٠١٢ بغـــض النظـــر عــــن كميـــة الســـوائل المتبادلـــة. تقـــاس الكثافـــة النوعيـــة للبـــول بطريقـــة مباشـــرة باســـتخدام المـــيزان أو بطـــرق غـــير مباشـــرة عـــن طريـــق التعويـــم باســـتخدام Urinometer أو انكســـار الضـــوء باســـتخدام Refractometer. يطـــرح ٠,٠٠٣ مـــن نتيجـــة قياس الكثافة مقابل كـــل ١غـــم/دل جلوكـــوز أو بروتيـــن فـــي حالـــة ظـــهورها فـــي البول عند قياسها في حالـــة الامتنـــاع أو الإفـــراط فـــي تنـــاول الســـوائل.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمــــة :

- ميزان حســـاس
- ماصـــات زجاجيـــة بســـعات مختلفـــة (٥/٢/١ أو
- جـــهاز Urinometes مـــع وعائـــه (مخبـــار اســـطواني ســـعته ٢٠ مللــــتر) أو جهاز قيـــاس انكـــاس الضـــوء فـــي الســـوائل Refsoatometes

أ. قياس الكثافة النوعية باستخدام الميزان

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	قـــم بـــوزن دورق قياســـي ســـعة ١٠ ملل نظيفا وجافـــا.	للحصـــول علـــى وزن الـــدوق فارغـــا.
٢.	أملأ الـــدورق حتـــى العلامـــة بالمـــاء المقطر وقـــم بوزنـــها.	لمعرفـــة وزن ســـعته مـــن المـــاء المقطر عـــن طريـــق طـــرح وزنـــه فارغـــا مـــن وزنـــه مملـــوءا حتـــى العلامة بالمـــاء المقطـــر.

٣.	تخلص من محتويات الدورق من الماء المقطر واغسله بقليل من عينة البول الصافي ومن ثم املأه حتى العلامة وقم بوزنه.	لمعرفة وزن سعته من البول عن طريق طرح وزنه فارغا من وزنه مملوءا بالبول حتى العلامة.
٤.	اقسم وزن سعة الدورق من البول على وزن سعته من الماء المقطر.	للحصول على الكثافة النوعية التي تعرف بالنسبة بين كتلة المادة الى كتلة نفس حجمها من الماء المقطر.
٥.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة على عينة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ب. قياس الكثافة النوعية باستخدام Urinometer

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أملأ وعاء اليوريتوميتر حتى ثلاثة أرباعه بجزء من عينة وهو في وضع مائل.	لتوفير عمق كاف من البول لتعويم اليورينوميتر وتجنب تجمع طبقة رغوة على السطح.
٢.	أغمس اليورينوميتر في البول الموجود في الوعاء بادارته.	للتأكد من تعويم اليورينوميتر في البول وللتخلص من الفقاعات السطحية.
٣.	أقرأ خط التدريج على عنق اليورينوميتر الذي يتطابق مع اسفل تقعر سطح البول.	لمعرفة الكثافة النوعية بشكل أولي.
٤.	تأكد من درجة حرارة الجو أثناء قياس الكثافة النوعية.	لتعديل الكثافة النوعية لعينة البول بما يتناسب مع درجة حرارة تدريج اليورينوميتر المثبتة عليه (١٥°م) وذلك بانقاص ٠,٠٠١ مقابل كل ٣ درجات أعلى من ١٥°م وزيادة٠,٠٠١ مقابل كل ٣ درجات أقل من ١٥ من الكثافة النوعية الأولية.
٥.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة وللمحافظى على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

جـ. قياس الكثافة النوعية باستخدام Refractometer

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	نظف سطوح المنشور وغطاءه ب قطرة ماء مقطر وقطعة قماش مبللة وجففها.	للتخلص من أية رواسب متبقية من عينات سابقة.
٢.	أقفل الغطاء على المنشور وضع قطرة من البول في حفرة قاعدة الغطاء عندما يكون الجهاز أفقيا.	لتسريب البول فوق سطح المنشور بفعل الخاصية الشعرية.
٣.	وجه مقدمة الجهاز باتجاه مصدر ضوئي بزواية مناسبة.	للحصول على أعلى نسبة من عدم التباين بين الجزء المضيء والجزء المعتم في العدسة العينية.
٤.	أقراء على تدريج الكثافة النوعية ما يطابق الخط الفاصل بين الجزء المضيء والمعتم في العدسة العينية.	لمعرفة الكثافة النوعية لعينة البول.
٥.	قم باعادة الخطوات٢ – ٣ – ٤ على قطرة ثانية من البول.	للحصول على قراءة ثانية واعتماد معدل القرائتين في النتيجة.
٦.	كرر الخطوة رقم (١) ونظف مكان العمل.	استعدادا لإعادة قياس الكثافة النوعية لعينات أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٥٩-

الفحص المجهري لرواسب البول

الـــهدف :

ان يكـــون الطـــالب قـــادراً علـــى اســـتخدام المجـــهر فـــي الكشـــف عـــن طبيعـــة الرواسب البوليـــة.

المبـــدأ :

تكثف الرواســـب العالقـــة فـــي البـــول عشـــرة مـــرات باســـتخدام الطـــرد المركـــزي وتســـتخدم العدســـات الســـينية ١٠ و ٤٠ لمعرفـــة طبيعـــة الرواســـب ومقاديرهـــا في عشرة حقـــول مجهريـــة متتابعـــة فـــي عبـــوة عطـــاء شـــريحة بعـــد التـــأكد مـــن تجانس توزيعـــها .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــة :

- جهاز طـــرد مركـــزي .
- انابيب طرد مركزيـــة بســـعة ١٥ ملـــل ويفضـــل ان تكـــون مدرجـــة .
- شـــرائح زجاجيـــة واغطيتـــها.
- مجـــهر مـــزود بالعدســـات الشـــيئية (١٠ و ٤٠) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امـــزج عينـــة البـــول بشـــكل جيـــد وخـــذ ١٠مـــل مـــن العينـــة فـــي انبـــوب طـــرد مركـــزي يفضـــل ان يكون مدرجـــا .	لاثـــارة الرواســـب وتوزيعـــها بشـــكل متجـــانس قبـــل تعريضـــها للطرد المركـــزي.
٢.	عـــرض محتويـــات الانبـــوب للطـــرد المركـــزي لمـــدة ٣ دقـــائق بســـرعة ٣٠٠٠ د/د وتخلـــص من ٩ مـــل .	لمضاعفـــة تركـــيز الرواســـب البوليـــة عشـــرة اضعـــاف تركيزها الاصلـــي.
٣.	عكر الرواسب البوليـــة فيمـــا تبقـــى من البول الطـــافي .	لاعادة توزيـــع الرواســـب بشـــكل متجانس فيمـــا تبقـــى مـــن البـــول الطـــافي.
٤.	ضـــع قطـــرة بحجـــم مناســـب (قطرهـــا حوالـــي ١ملـــم) علـــى شـــريحة زجاجيـــة نظيفـــة وجافـــة وغطيـــها بغطـــاء شـــريحة بحيـــث يبقى الغطـــاء ثابتـــا والعينـــة خاليـــة من الفقاعـــات.	تمهيدا لفحصـــها مجـــهريا.

٥.	استعرض سطح الشريحة الزجاجية على العدسة الشيئية بعيدا عن العينة.	للتعرف على اشكال ما قد يكون لاصقا بها من غبار لاستبعاده من التقرير.
٦.	امسح بشكل شامل العينة على العدسة الشيئية ١٠ (LPF) .	للتأكد من تجانس توزيع الرواسب في العينة.
٧.	استعرض عشرة حقول مجهرية متلاحقة على العدسة الشيئية ٤٠ (HPF).	للتعرف على طبيعة الرواسب البولية ومقاديرها يعبر عن مقادير الرواسب بأقل عدد – أكبر عدد من الخلايا تتم مشاهدته في الحقول العشرة التي تم استعراضها إذا لم يتجاوز عددها في أي حقل ٠.٥٠ ويعبر عن مقاديرها بالمصطلحات التالية Plenty (٥٠-١٠٠) Neumesous أكثر من ١٠٠ Fullypacked عندما تكون الرواسب شبه متراصة. أما الاسطوانات فيعبر عنها بنفس الطريقة السابقة في كل حقل مجهري صغير (١٠) يعتبر عن الرواسب الملحية بدرجات تمثل ما يشغله مجموع الرواسب من الحقل المجهري ٢٠ بحيث تعادل كل درجة (+) ١ من مساحة الحقل ويعبر ٢٠ عنها ٢٠ بالمصطلحات Rare أو Occasional إذا ظهر عدد قليل منها في بعض الحقول .
٨.	ضع الشريحة والعينة وانابيب الطرد المركزي بمحلول مطهر.	تمهيدا لتنظيفها واعادة استعمالها.
٩.	افصل التيار الكهربائي عن المجهر ونظفه ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاعادة التجربة عند اللزوم والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٦٠-

تعداد الرواسب الخلوية في البول بطريقة أديس

Addis Count For Urine Cellular Sediments

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تعداد أي من الخلايا الحمراء والبيضاء والطلائية والأجسام الإسطوانية في عينة البول باستعمال شرائح تعداد الخلايا مثل شريحة نوبر المحسنة والتعبير عن النتيجة بعدد الخلايا المفرزة في ١٢ ساعة.

المبدأ :

تكثف الرواسب الخلوية للبول المجموع خلال ١٢ ساعة من ساعات الليل حيث يحد قدر الإمكان من تناول الطعام والشراب للحصول على عينات بول مركز للحد من قدرة الخاصية الاسموزية على تفتيت الخلايا الحمراء تعد الرواسب الخلوية للبول لمتابعة الأمراض الكلوية المختلفة كالتهاب وحدات العمل الكلوية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مجهر ضوئي بالعدسات الشيئية ١٠و٤٠.
- حاوية بفتحة واسعة وغطاء محكم سعة ١ لتر.
- أنابيب طرد مركزي مدرجة سعة ١٥ ملل.
- ١٠% فورمالين.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أغسل حاوية جمع البول بمحلول ١٠% فورمالين.	لمنع تلف الرواسب الخلوية والحد من نمو البكتيريا.
٢.	زود المريض بالحاوية واطلب منه أن يفرغ مثانته من البول الساعة الثامنة أو أي وقت آخر بحدود الثامنة مساءا بالضبط خارج الحاوية وأن يحد من طعامه وشرابه قدر الإمكان ويضع ما يخرجه من بول	للحصول على البول المركز الذي تفرزه الكلى في المثانة خلال ١٢ ساعة من ساعات الليل.

	خلال الليل في الحاوية حتى الصباح الساعة الثامنة (أو وقت البداية) بالضبط حيث يفرغ كل ما تحويه المثانة وعدم التفريط بأي نقطة، وأن يحفظ الحاوية خلال فترة التجميع بدرجة حرارة الغرفة	
.٣	أكتب اسم المريض على الحاوية عند استلامها.	لتمييز عينة المريض عن بقية العينات.
.٤	أمزج محتويات الحاوية وانقلها بشكل كامل الى دورق مدرج بالملل وهو بوضع مائل.	لقياس حجم البول المتجمع في الحاوية خلال ١٢ ساعة لأقرب ملل وبدون تدخل الرغوة السطحية.
.٥	قم بإجراء الفحص المجهري للرواسب الخلوية بعد تكثيف البول بأنابيب الطرد المركزي عشرة مرات.	لتحديد حجم البول الذي ستعلق فيه الرواسب أثناء العد وبالتالي نسبة تكثيفها.
.٦	أمزج عينة البول جيدا وعرض ١٠ ملل منها للطرد المركزي في أنابيب طرد مدرجة بسرعة ٢٠٠٠ د/د لمدة ٥ دقائق.	لترسيب جميع الرواسب الخلوية الموجودة في ١٠ ملل من البول بعد التأكد من تجانس توزيع الرواسب في العينة.
.٧	تخلص من الطافي وعدل حجم ما تبقى في أسفل الأنبوب الى ١ ملل أو ٢ملل وامزج جيدا.	لإعادة تعليق الرواسب في ١ ملل وبالتالي تكثيف رواسب العينة ١٠ مرات أو في ٢ ملل لتكثيف الرواسب ٥ مرات في حالة زيادة كثافة الرواسب في العينة الأصلية.
.٨	أملأ حجرات العد في شريحتي نوير المحسنة على الجانبين من معلق الرواسب المكثف بواسطة أنابيب شعرية.	تمهيدا لعد أي من الخلايا الحمراء والبيضاء والطلائية والاسطوانات.
.٩	استخدم العدسة الشيئية ١٠ لعد الأسطوانات التي في جميع مربعات الصرفي الشريحيتين	لمعرفة عدد الاسطوانات الموجودة في ما في ما مساحته ٣٦ملم٢ (36W) وذلك بسبب قلة عدد الأسطوانات نسبيا .

	أو استخدام العدسة الشيئية ٤٠ لعد الخلايا الحمراء أو البيضاء أو الخلايا الطلائية في ما مساحته ١ملم٢ (W) في كل من جهات شريحة العد.	لمعرفة عدد الخلايا الموجودة في ما مساحته ٤ملم٢ (4W).
.١٠	أقسم عدد الأسطوانات على ٣٦ وعدد الخلايا على ٤.	لمعرفة عدد الخلايا أو الأسطوانات في ١ملم٢ أو في ٠,١ ملم٣ من البول المكثف ١٠ أو ٥ مرات وبالتالي لحساب عدد ما افرز منها خلال ١٢ ساعة بتطبيق المعادلة التالية: عدد الخلايا أو الاسطوانات/١٢ ساعة= عددها في ٠,١ملم٣ ×١٠ ×١٠٠٠×حجم البول/١٢ ساعة بالملل ـــــــــــــــــــــــــــــــــ ١٠ أو ٥ حيث يكون المقام ١٠ إذا علقت الرواسب في ١ملل و٥ إذا علقت الرواسب بـ ٢ملل.
.١١	أكتب في تقريريك العدد الطبيعي للخلايا الإسطوانات المفرزة في البول كما يلي: الخلايا الحمراء=٠-٥٠٠الف/١٢ساعة الخلايا البيضاء=٠-مليون/١٢ساعة الاسطوانات الشفافة = صفر-٥٠٠٠/١٢ساعة	لمساعدة الطبيب على تقييم النتيجة المخبرية بمقارنتها مع القيم الطبيعية.
.١٢	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٦١-

الكشف عن السكر في البول

Benedict test for urine sugar

الـهدف :

ان يكون الطالب قـادرا علـى الكشـف عـن السـكر فـي البـول بواسـطة محلـول بنيديكـت.

المبـدأ :

يعمـل الوسـط القلـوي الخـاص بمحلـول بنيديكيـت علـى تكويـن مجموعـات الانيديـول فـي السـكر تقـوم مجموعـات الانيـدول بـاختزال كبريتـات النحـاس القلويـة الموجـودة فـي المحلـول إلـى رواسـب مـن أكاسـيد النحـاس الحمـراء التـي عنـد اختلاطـها مـع اللـون الأزرق الخـاص بكبريتـات النحـاس تعطـي جدولا لونيا أخضـر، أصفـر، برتقـالي، أحمـر .

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـة :

- انابيب اختبـار نظيفـة وجافـة.
- محلـول بنيديكيـت .
- حمام ماء يغلـي او لـهب بنسـون.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امـزج حجـم بـول صـافي (٠,٥ ملـل أو ٨ نقـط) بعشـرة احجـام مـن محلـول بنيديكيـت (٥ ملـل) فـي انبوب اختبـار.	لاسـتحداث مجموعـات الانيديـول فـي السـكر الاحـادي بفعـل الطبيعـة القلوية لمحلـول بنيديكيـت.
٢.	ضع انبـوب الاختبـار فـي حمـام مـاء يغلـي لمـدة ٥ دقـائق او سـخن الانبـوب حتـى الغليـان علـى لـهب بنسون لمـدة دقيقتيـن.	لمسـاعدة مجموعـات الانيديـول المسـتحدثة علـى اختـزال كبريتـات النحـاس الـى رواسـب مـن اكاسـيد النحاس الحمـراء.
٣.	لاحـظ مـا قـد يطـرأ بعـد التسـخين مباشـرة علـى محلـول بنيديكيـت مـن تغيير متوقع كمـا يلـي: • بقاء محلول بنيديكيـت علـى حالـه. • ظـهور لـون اخضـر مـع بقـاء المحلول شـفافا (صافيـا).	لمعرفـة كثافـة الرواسـب الحمـراء ولـون الخليـط بينـها وبين اللـون الازرق ودلالتـه. • عدم وجـود أي نـوع مـن النشويات احاديـة التسـكر. • احتمـال وجـود السـكر ويتـم التـأكد مـن ذلـك

	• ظهور راسب اخضر شفاف العينة (Trace). • ظهور راسب اخضر غير شفاف. • ظهور راسب اصفر غير شفاف • ظهور راسب برتقالي غير شفاف. • ظهور راسب احمر غير شفاف.	بتجارب اخرى. • وجود اثر للسكر في العينة Trace. • وجود درجة واحدة من السكر (٠,٥غم/دل) (+). • وجود درجتين من السكر (++) • وجود ثلاث درجات من السكر (+++) • وجود اربع درجات او اكثر من السكر (++++).
٤.	افصل التيار الكهربائي عن الحمام المائي او اطفيء اللهب ونظف الانابيب والماصات والموقع واعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٦٢-

الكشف عن الجلوكوز في البول باستخدام الاشرطة الورقية

Test tapes for urine glucose

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام الاشرطة الورقية في الكشف عن الجلوكوز في عينات البول.

المبدأ :

يحتوي المربع الورقي الخاص بالكشف عن الجلوكوز على انزيمات البيروكسيد وجلوكوز اوكسيديز ومركب فينولي مثل O-Tolidine. يعمل انزيم جلوكوز أوكسيديز على أكسدة الجلوكوز إلى حامض الجلوكونيك وينتج فوق أكسيد الهيدروجين الذي يتحلل بمساعدة البيروكسيديز إلى ماء واكسجين ذري يؤكسد O-Tolidine وبالتالي يتغير لون المربع من الأصفر إلى الأخضر.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- شريط ورقي مشبع بانزيمات glucose oxidase, peroxidase, وأي مركب فينولي مثل O-Tolidine (الاشرطة متوفرة تجاريا في الاسواق).

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اغمس المربع الورقي المثبت على الشريط البلاستيكي في عينة طازجة من البول بشكل لحظي.	لاعطاء الفرصة للانزيمات والمركبات الفينولية الموجودة في مسامات المربع الورقي للتفاعل مع الجلوكوز في حالة وجوده في العينة.
.٢	قارن ما قد يطرأ من تغيير على لون المربع الورقي الخاص بالجلوكوز مع الجدول اللوني المثبت على عبوة الاشرطة.	لاقرار امكانية وجود الجلوكوز دون غيره من السكريات الاحادية في عينة البول وبشكل شبه كمي.
.٣	تخلص من الشريط المستخدم ونظف الموقع وأعد الأشرطة إلى مكان حفظها .	للمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليــة -١٦٣-

الكشف عن الزلال في البول بالتسخين

(Heat Test for Urine Albumin)

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـادرا علـى اسـتخدام اللـهب فـي الكشـف عـن وجـود بروتيـن الالبومين في عينـات البـول.

المبـدأ :

يعمـل حـامض الأسـيتيك علـى تقريـب الرقـم الـهيدروجيني لعينـة البـول مـن الرقـم الـهيدروجيني للتعـادل الكـهربائي للألبوميـن (٥,٢) وبالتـالي علـى زيادة حساسـيته للترسـيب بالتسـخين .

الأجـهزة والادوات والمـواد اللازمـة :

- انابيب اختبـار نظيفـة وجافـة.
- ٣٠% حـامض الخليـك Acetic Acid
- موقد لـهب بتسـون.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	املأ ثلثـي الـى ثلاثـة اربـاع انبـوب اختبار بعينة البـول الصـافي.	كـي تتـاح الفرصـة لتسـخين الجـزء العلـوي مـن العينـة مـع بقـاء الجـزء السـفلي بدرجـة حرارة الغرفـة.
٢.	اضـف عـدة نقـط مـن ٣٠% حـامض الخليـك الـى سـطح البـول وحرك الانبـوب بشـكل تذبذبـي.	لتقريـب pH الجـزء السـطحي مـن عينـة البـول مـن pH التعـادل الكـهربائي للألبومـن (٥,٢) الـذي يسـهل امكانيـة ترسـيبه فـي هـذه الحالـة بالتسـخين.
٣.	اقبـض باصـابعك علـى اسـفل الانبـوب وسـخن حتـى الغليـان الجزء العلوي مـن عينـة البـول فـي وسـط لـهب بنسـون بحيـث تكـون فتحـة الانبـوب معاكسـة للوجـه والصـدر.	للعمـل علـى تخـثر الالبوميـن ومن ثـم ترسـيبه بسـهولة بـدون تعريض الاصـابع للحـرارة.

٤.	لاحظ ما قد يطرأ من تغيير متوقع على الجزء العلوي من عينة البول التي عرضت للغليان بمقارنتها مع الجزء السفلي كما يلي: • عدم ملاحظة أي تعكير. • ظهور تعكير ابيض شفاف لا يلاحظ الا في الضوء الساطع. • ظهور تعكير ابيض شفاف بدون مساعدة الضوء الساطع. • ظهور تعكير ابيض متجانس غير شفاف. • ظهور تعكير ابيض رملي غير شاف. • ظهور تعكير ابيض قشري غير شفاف. • ظهور كتل من الراسب بشكل مفاجيء.	لمعرفة كثافة الراسب في حالة ظهوره ودلالته كما يلي: • عدم وجود الالبومين في العينة. • وجود اثر بسيط (ضعيف) من الالبومين Faint Trace. • وجود اثر للالبومين في العينة Trace. • وجود الالبومين بدرجة واحدة (+). • وجود الالبومين بدرجتين (++). • وجود الالبومين بثلاث درجات (+++). • وجود الالبومين بأربع درجات (++++).
٥.	اطفيء لهب بنسون ونظف الانابيب من العينات ونظف الموقع واعد المحاليل الى مواقعها.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايــة العمليــة -١٦٤-

الكشف عن الزلال في البول بواسطة السلفوساليسيليك

Sulphosalycilic Acid (SSA) test for Urine Albumin

الـــهدف :

استخدام محلول ٥ % (SSA) فـــي الكشـــف عـــن وجـــود الـــبروتين فـــي البـــول.

المبــدأ :

تترسب البروتينـــــات فـــي اوســـاطها الحامضيـــة علـــى هيئـــة أيونـــات موجبـــة عـــن طريـــق ارتباطـــها بـــالقواعد الســـالبة للأحمـــاض (SSA مثـــلا...).

الادوات والمـــواد اللازمـــة :

- انابيب اختبـــار نظيفـــة وجافـــة.
- قطـــارات
- محـــلول ٥ % محـــلول (SSA)

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	اسـقط علـى سـطح حوالـي ٢ ملـل مــن البــول الصــافي فـــي انبـــوب اختبــار ٢-٣ نقـــط مـــن محلـــول (SSA)%٥	لترسـيب الالبوميــن فــي حالـــة وجــوده علــى هيئـــة ايونـــات موجبـة فـي وسـطه الحـامضي بارتباطـه مـع قـاعدة حـــامض (SSA) الســـالبة.
.٢	لاحـظ مـا قـد يطـرأ مـن تعكـــير ابيض في مســـار النقـط داخـل العينـــة كما يلـــي: أ- عدم ظـــهور أي تعكـــير. ب- ظـــهور تعكـــير.	لمعرفـة كثافـة التعكـــير فـــي حالـة ظـهوره ودلالتـــه كمـــا يلـــي: - عدم وجـــود الالبوميـــن. - وجــود الالبوميــن وبتناســـب طردي مع تركـــيز الالبوميـــن
.٣	اعـد محلـول (SSA) الـى مكانـــه ونظف الانـــابيب والموقـــع.	تمـهيدا لاعـادة التجربـة علـــى عينـــات اخـــرى وللمحافظـــة علـى نظافـة الموقـع وســـلامة البيئـــة.

الكفايــة العمليـــة -١٦٥-

الكشف عن الزلال في البول بالاشرطة الورقية

Test tapes for urine Albumin

الـــهدف :

ان يكـون الطـالب قـادرا علـى اسـتخدام الاشـرطة الورقيـة فـي الكشـف عـن الـزلال (الالبوميـن) فـي البـول. Test tapes for Albumin

المبــدأ :

يحتـوي مربـع الشـريط الورقـي علـى صبغـة بروموفينـول الأزرق ومنظـم سـترات (ر.هـ٣) . يتغـير لـون الصبغـة بعـد ارتباطـها مـع الـبروتين مـن الأصفر البرتقـالي إلـى اللـون الأزرق .

الادوات والمــواد اللازمـــة :

- اشـرطة ورقيـة مشـبعة بمحلـول صبغـة بروموفينـول الازرق (Bromophenol Blue) ومحلـول منظـم السـيتريت Citrate Buffer.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اغمـس المربـع الورقـي المثبـت على الشـريط البلاسـتيكي فـي عينـة طازجة من البـول بشـكل لحظـي.	لاعطاء فرصة لصبغة البروموفينول الازرق الموجـودة فـي مسـامات المربع الورقي للتفاعل مع الـبروتين في حالة وجوده في pH3
٢.	قارن بين مـا قـد يطـرأ مـن تغيـير على لـون المربـع الورقـي الخـاص بـالالبومين (بروتيـن) مـع الجـدول اللونـي المثبـت علـى عبـوة الاشـرطة .	لاقـرار امكانيـة وجـود الألبوميـن فـي عينـة البـول وبشكل شبه كمـي.
٣.	تخلـص مـن الشـريط المسـتخدم ونظف الموقـع.	للمحافظـة علـى نظافـة الموقـع وسلامة البيئـة.

الكشف عن المركبات الكيتونية في البول بطريقة روتيرا

Ruthesa's Test For Ketonediodies

الـــهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشــــف عـــن المركبـــات الكيتونيـــة فـــي البـــول.

المبـــدأ :

تشـــمل المركبــــات الكيتونيـــــة كــــــل مـــــن الاســــــيتون وأحمــــــــاض Acetoacetic A و B-HydroxyBucyric A وتظـــــهر فـــــي البـــــول عنـــــــد اعتمـــاد الجســـم علـــى الشـــحوم بـــدل النشـــويات كمصـــدر للطاقـــــة كمــــا فـــــي المجاعـــة ومـــرض الســـكري يتفـــاعل الاســـيتون والأسيتواســـيتيك الـــذان يرافقـــــان حـــامض B-HydroxyButyric A مـــع نيترورســـيد الصوديـــوم فـــــــي الوســـــط القلوي وينتج لـــون أحمـــر قرمـــزي.

الأدوات والمـــواد اللازمـــــة :

- أنـــابيب اختبـــار ١١٠×١٠ملـــم
- قطارات ســـعة ٠,٥ملـــم.
- مسحوق روثـــيرا (خليـــط مـــن ١٠٠ جـــزء كبريتـــات الأمونيـــوم وجـــزء واحـــد مـــن نيتروبروســـيد الصوديـــوم).
- محلول أمونيـــا مركـــزة
- جهاز طــــرد مركـــزي.

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	عـــرض عينـــة البـــول بعـــد مزجـــــها للطـــرد المركـــــزي بســـــرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣دقــــائق.	لفصل الرواسب الطافي الصافي.
.٢	أشـــبع حوالـــي ٢مللتـر مـــن الطـــــافي الصافي بمســـــحوق روتـــيرا.	لتوفـــــير فرصـــــــة تفـــــاعل نيتروبروســـيد الصوديـــوم مـــــع الاســـيتون والاسيتواســـيتيك فـــــي وسط قلـــوي.
.٣	أســـكب علــــــى الســـــطح الداخلـــــي للانبوب الـــذي يحتـــوي الخليـــط وهـــو بوضـــع مـــائل حوالـــــي ٠,٥ ملـــــل (عبوة قطـــارة) مـــن محلـــول الأمونيـــا	للمحافظـــة علـــى طبقـــة الأمونيـــا مركــــزة وملامســــة ســـــطح الخليـــط وبالتـــالي توفـــير وســـط قلـــوي مركـــــز لمفاعلـــــة

	المركزة وأعـد الأنبـوب الـى وضـع عمودي بـهدوء .	المركبـات الكيتونيـة مـع نيتروبروسـيد الصوديـوم.
.٤	تفحـص سـطح التمـاس بيـن الخليـط في اسـفل الانبـوب وطبقـه الأمونيـا فوقه بعد عـدة دقـائق.	لاسـتدلال علـى وجـود المركبـات الكيتونيـة عـن طريـق ظـهور حلقـة حمـراء قرمزيـة فـي سـطح التمـاس تزداد الكثافـة مـع الوقـت حتـى ١٥ دقيقـة.
.٥	نظـف الأدوات ومكـان العمـل وأعـد الأدوات والمـواد الـى أمـاكن حفظـها.	استعدادا لإجـراء التجربـة مـرة أخرى وللمحافظـة علـى نظافـة المكان وسـلامة البيئـة.

الكفايـــة العمليـــة -١٦٧-

الكشف عن الصفراء (Bilirubin) في البول بطريقة فوشيت

Fouchet Test for Urine Bilirubin

الـــهدف :

ان يكون الطالب قـــادرا علـــى الكشـــف عـــن وجـــود البيلـــيروبين فـــي عينـــة البـــول عن طريـــق مظـــهره واســـتخدام محلـــول فوشـــيت Fouchet كعـــامل مؤكســـد.

المبـــدأ :

يؤكســـد كلوريـــد الحديديـــك الموجـــود فـــي محلـــول فوشـــيت البيلـــــيروبين إلــــى البيلفـــيردين الأخضـــر. تعمـــل رواســـب فســـفات أو كبريتـــــات البـــاريوم علــــى امتصاص البيلروبين وزيـــــادة تركـــيزه بعـــد ترســـيبها بـــالطرد المركـــزي .

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- محلول فوشـــــيت
- محلـــول ١٠% كلوريـــد البـــــاريوم.
- قطـــارات.
- ادوات زجاجيـــة نظيفـــة وجافـــة.
  - أ- انابيب طـــرد مركـــزي.
  - ب- ماصـــات
- حـــامض كـــبريتيك مخفـــف ١٠%

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	لاحظ لون عينـــة البـــول بشـــكل عـــام ودقق في لـــــون رغوتـــه او القـــرص المقعر في ســـطحه.	لأن وجـــــود اللـــــون الاصفـــــر المـــائل للخضــــرة مـــن المؤشــــرات على وجـــود البيلـــيروبين.
٢.	امـــزج فـــي انبـــوب طـــرد مركـــزي حجـــم مـــن عينـــة البـــول الصـــــافي (حوالـــي ٢ملـــل) مـــع حجـــم مســـاو مــــن محلـــــول ١٠% كلوريــــــد البـــاريوم.	للحصـــول علـــى رواســـب فســـفات الباريوم القـــادرة علـــى امتصـــاص البيليروبين فـــي ســـطحها.
٣.	اضـــف عـــدة نقـــط مـــن محلـــــول ١٠% حـــامض كـــبريتيك فـــي حالـــة عدم ظـــهور راســـب بشـــكل ملحـــوظ في الخطـــوة الســـابقة.	لتوفـــير راســـب مــــن كبريتـــــات البـــاريوم فـــي حالـــة عـــدم توفـــر ايونـــات الفســـفات بكميـــات كافيـــة في العينـــة .
٤.	عـــرض محتويـــات الانبـــوب للطـــرد المركـــــزي بســـــرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ٣ دقـــائق.	لفصـــل الراســـب النــــاتج مــــن الخطـــوات الســـابقة وتجميعـــه علـــى شـــكل قـــرص فـــي اســـفل الانبـــوب.

٥.	تخلص من الطافي واضف الى قرص الراسب في اسفل انبوب الطرد المركزي عدة نقط من محلول فوشيت.	للعمل على اكسدة البيليروبين المجمع بشكل مكثف في قرص الراسب بشكل فعال الى صبغة البيليفيردين الخضراء.
٦.	راقب ما قد يطرأ من تغيير خلال دقيقتين على لون حواف قرص الراسب كما يلي: أ- عدم ظهور اللون الاخضر. ب- ظهور اللون الاخضر في حافة القرص وينتشر بالتدريج نحو مركز القرص.	لاقرار ظهور اللون الاخضر الخاص بالبيليفيردين الناتج من اكسدة البيليروبين بكلوريد الحديديك الموجود في محلول فوشيت. عدم وجود البيليروبين في البول. وجود البيليروبين في البول وبتناسب طردي مع عرض الحزام الاخضر في حافة القرص.
٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة -١٦٨-

الكشف عن اليوروبيلينوجين والبورفوبيلينوجين في البول

الـــهدف :

أن يكــون الطـــالب قـــادرا علـــى الكشـــف عـــن وجـــود أي مـــن اليوروبيلينوجيـــــن والبورفوبيلينوجين فـــي عينـــات البـــول.

المبـــدأ :

تتفـــاعل كـــل مـــن اليوروبيلينوجيـــن والبورفوبيلينوجيـــن مـــع محلـــول أيرليـــخ فـــي حامض هيدركلوريـــد مركـــز وينتـــج لديـــها يـــدات معقـــدة حمـــراء ورديـــة. تعمـــل اسـيتات الصوديـــوم علـــــى تكثيـــــف اللـــــون النــــاتج وصنــــع الســــكاتولات والانـــدولات (Skators) و(Indode) مـــــن التفــــاعل. يتمـــــيز اليوروبيلينوجيــــن عـــن اليورفوبيلينوجيـــن بذائبيتـــه فـــي الكلوروفـــورم أو البيوتـــانول.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- محلـــول أرليـــخ Ehrlich
- محلول مشـــبع مـــن اســتيتات الصوديـــوم.
- بيوتــــانول.
- كلوروفـــــورم.
- أنـــابيب إختبـــار ١١٠ × ١٠ملـــم
- جهاز طـــرد مركـــزي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أمـــزج فـــي أنبـــوب اختبـــــار ١ – ٢ ملـــل مـــن البـــول الطـــازج والصـــافي مع حجم مساو مـــن محلـــول ايرليـــخ.	للسماح بتفاعل اليوروبيلينوجين و/أو البورفوبيلنوجين مع محلول ايرليـــخ وتكوين الديها يد معقد لونه أحمـــر قرمزي.
٢.	أمزج الخليـــط بـــالتقليب مـــع حجميـــن مـــــن محلــــول مشـــــبع بأســــيتات الصوديـــوم.	لتكثيـــف اللـــون الأحمـــر النـــاتج ومنـــع تفـــاعل مركبـــات أخـــرى مثـــل ســـكاتولات والاتـــــدولات مع محلول ايرليـــخ.
٣.	وزع الخليـــط فـــي أنبوبيـــــن بشــــكل متســـاوي.	لاســـتخلاص اللـــــون الأحمـــــر بـــالكلورفوم والبيوتــــانول كـــل علـى حـــده.
٤.	أضـــف الـــى أحـــدى الأجـــزاء حـــوال ٢ملـــل كلوروفـــورم وامـــزج بشـــكل فـــوري.	لاســـتخلاص اليوروبيليتوجيـــــن بـــالكلوروفورم.

م	الخطوة	السبب
.٥	عرض الخليط للطرد المركزي بسرعة ١٠٠٠ د/د لمدة دقيقتين.	لفصل الخليط الى طبقتين الكلورفورم في أسفل ومحلول استيتات الصوديوم المائي في أعلى.
.٦	حدد موقع اللون الأحمر بين الطبقتين.	للتفريق بين اليوروبيلينوجين الذي يذوب في الكلوروفوروم ولا يذوب في الماء ويظهر لونه الأحمر في الطبقة السفلى والبورفوبيلينوجين الذي لا يذوب في الكلورفورم ويذوب في الماء الطبقة العليا.
.٧	في حالة عدم استخلاص اللون الأحمر الوردي في الكلوروفورم أضف الى محتويات الأنبوب الآخر حوالي ٢ ملل من البيوتانول وأمزج بقوة.	لاستخلاص البوروبيلينوجين في البيوتانول.
.٨	عرض الخليط للطرد المركزي بسرعة ١٠٠٠د/د لمدة دقيقتين.	لفصل الخليط الى طبقتين البيوتانول في أعلى ومحلول أستيتات الصوديوم في أسفل.
.٩	حدد موقع اللون الأحمر بين الطبقتين.	للتفريق بين البوربيلينوجين الذي يذوب في البيوتانول ويظهر لونه الأحمر في الطبقة العليا والبورفوبيلينوجين الذي لا يذوب في البيوتانول ويذوب في الماء الطبقة السفلى.
.١٠	أكتب نتائج التجربة كما يلي: أ. ايجابية لليوروبيليتوجين ب. ايجابية لليورفوبيليتوجين	 لظهور اللون الأحمر في الطبقة السفلى عند الاستخلاص بالكلوروفورم وفي العليا عند الاستخلاص باليوتانول. لظهور اللون الأحمر في الطبقة العليا عند الاستخلاص بالكلورفورم وفي الطبقة السفلى عند الاستخلاص بالبيتونال.

	جـ. سلبية لكـلا المركبيـن د. ايجابية لكـلا المركبيـن.	عـدم ظـهور اللـون الأحمـر الوردي فـي الخليـط. إذا ظـهر اللـون الأحمـر بشـكل محسوس في كـلا الطبقتيـن فـي الأنبوبيـن.
١١.	نظـف الأدوات ومكـان العمـل وأعـد الأدوات والمـواد الـى أمـاكن حفظـها.	استعدادا لإجـراء التجربـة مـرة أخرى وللمحافظـة علـى نظافـة الموقع وسـلامة البيئـة.

تجربة تحمل الجلوكوز

Glucose Tolerence Test = GTT

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى إجـــراء تجربـــــة تحمـــل الجلوكـــوز الفميـــة والوريديـــة للمرضـــى الذيـــن يشـــتبه بمعاناتـــهم مـــن مـــرض الســـكري وأن يلـــم بطبيعة الخطوط البيانية التـــي تعـــبر عـــن نتيجـــة التجربـــة ودلالاتـــها.

المبـــدأ :

يتمـــيز مرضـــى الســـكري بنقـــص احتمـــال الجلوكـــوز (نقـــص ســـرعة انخفـــاض تركيز جلوكـــوز الـــدم) والـــذي يعتـــبر مؤشـــرا علـــى معانـــاة الإنســـان مـــن أحـــد أنـــواع مـــرض الســـكري. لـــذا يعطـــى المريـــض الصـــائم جرعـــة محســـوبة مـــن الجلوكوز عن طريق الفـــم أو عـــن طريـــق الوريـــد ومـــن ثـــم تجمـــع عينـــات الـــدم منه على فـــترات زمنيـــة متلاحقـــة. تمثـــل العلاقـــة بيـــن تركـــيز جلوكـــوز العينـــات وزمـــن جمعـــها بخـــط حيـــث يثبـــت زمـــن جمـــع العينـــة علـــى المحـــور الســـيني وتركيز جلوكوز الـــدم علـــى المحـــور الصـــادي.

الأجـــهزة والادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- جـــهاز تحليـــل طيفـــي لونـــــي Spectrophotometer
- مجموعة المواد اللازمـــة لقيـــاس تركـــيز الجلوكـــوز فـــي الـــدم.
- مســـحوق جلوكـــوز أو ٥٠% محلـــول جلوكـــــوز.
- ماء مقطــــــر.
- كأس زجـــاجي ســـعة ٥٠٠ ملـــل.
- ابر سحب الـــدم مـــع حقنـــها
- أنـــابيب اختبـــار ١١٠ × ١٠ملـــم
- حاويات لعينات الـــدم الخاصـــة بقيـــاس تركـــيز الجلوكـــوز.
- ورق رســـم بيـــاني.

أ. تجربة إحتمال الجلوكوز الفموية
(Oral G.TT)

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أطلـــب مـــن المريـــض أن يحضـــــر للمختبر صائما بعـــد ثلاثـــة أيـــام مـــن تنـــاول وجبـــات غنيـــة بالنشـــــويات	للحصول على وضع قياسي اساســـي في تركيز جلوكوز الـــدم وتجنـــب نقص غـــير حقيقـــي فـــي إحتمـــال

	(بمعدل ٣٠٠ غم/يوم) وعدم تناول أية أدوية تؤثر على تركيز جلوكوز الدم.	الجلوكوز.
٢.	أسحب عينة دم من المريض الصائم واطلب منه أن يجمع عينة بول.	لقياس تركيز جلوكوز الدم والكشف عن الجلوكوز في البول في حالة الصيام.
٣.	زن مسحوق جلوكوز بما يعادل ١,٥غم/كغم من وزن المريض واذابه في حوالي ٣٠٠ ملل ماء مقطر مضافا إليها عدة نقط ليمون وأسق المحلول للمريض.	لتوفير جرعة جلوكوز مناسبة للمريض عن طريق الفم بدون شعوره بالغثيان بسبب شدة حلاوة المحلول.
٤.	اسحب عينة دم واجمع عينة بول من المريض كل نصف ساعة من بعد انتهائه من تناول محلول الجلوكوز حتى انقضاء ساعتين ونصف.	لاستخدامها في متابعة تركيز الجلوكوز في الدم على مدى ساعتين ونصف من تناول جرعة الجلوكوز عن طريق الفم.
٥.	قم بقياس تركيز جلوكوز الدم في عينة الصيام وبقية العينات بالطريقة المعتمدة في المختبر.	للتعرف على تركيز جلوكوز في حالة الصيام وفي الفترات الزمنية اللاحقة لتناوله جرعة النشويات عن طريق الفم.
٦.	قم بالكشف عن الجلوكوز في بول عينة الصيام والعينات اللاحقة.	للربط بين تركيز جلوكوز الدم وظهوره في البول.
٧.	مثل العلاقة بين تركيز جلوكوز الدم وزمن جمع العينة بخط بياني حيث يثبت زمن جمع العينة على المحور السيني وتركيز جلوكوز الدم على المحور الصادي.	لاستخدام خصائص الخط البياني في معرفة مدى احتمال الجلوكوز حيث يقل أو يكاد أن يتلاشى في مرضى السكري.
٨.	تفحص خصائص الخط البياني المرسوم وبناءا عليه استنتج ما يلي: أ, إحتمال جلوكوز الانسان طبيعي لا يعاني مرض السكري.	لأن تركيز جلوكوز دم الصيام أقل من ١٠٠ ملغم/دل ولا يتجاوز أعلى تركيز جلوكوز الدم في جميع العينات العتبة الكلوية (١٦٠ملغم/دل) ويعود تركيز جلوكوز الدم الى مستوى الصيام بعد ساعتين ويقل

		قليلا بعد ساعتين ونصف ولا يظهر الجلوكوز في أي من عينات البول.
	ب. نقص بشكل معتدل في احتمال الجلوكوز يخص انسانا يعاني من مرض سكري معتدل Mild Diabitis Melitis	لأن تركيز جلوكوز دم الصيام أعلى من ١٠٠ ملغم ويتجاوز أعلى تركيز له العقبة الكلوية (في عينات النصف ساعة والساعة) حيث يظهر الجلوكوز في البول ويقل تركيزه بعد ساعتين عن أعلى تركيز له لكنه لا يعود الى مستوى الصيام بعد ساعتين.
	ج. نقص حاد في احتمال الجلوكوز يخص أنسانا يعاني بشكل حاد في مرض السكري Aoute Diabitis Melitus	لأن تركيز جلوكوز دم الصيام وبقية العينات يتجاوز العينة الكلوية بشكل تدريجي حتى أعلى تركيز له (بعد ساعة) الذي يبقى ثابتا حتى بعد ساعتين من جرعة الجلوكوز ويظهر الجلوكوز في جمع عينات البول.
	د. زيادة احتمال الجلوكوز لمن يعاني من نقص نشاط بعض الغدد مثل مرض أديسون (هورمون الالدوستيرون) ومرض سيموند (نقص نشاط الغدة النخامية) ونقص نشاط الغدة الدرقية وفي اضطرابات القناة الهضمية.	لأن تركيز جلوكوز الدم يزيد قليلا عن تركيز الصيام ويظهر الخط البياني شبه مستقيم.
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد المستخدمة الى أماكن حفظها.	استعداد لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ب. تجربة احتمال الجلوكوز الوريدية

Intrauevtw (G.T.T)

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أطلب من المريض أن يحضر للمختبر صائما بعد ثلاثة أيام من تناول وجبات نشوية عينة النشويات (بمعدل يزيد عن ٣٠٠ غم/يوم) وعدم تناول أية أدوية تؤثر على تركيز جلوكوز الدم.	للحصول على تركيز جلوكوز دم قياسي اساسي في حالة الصيام وتجنب نقص غير حقيقي في احتمال الجلوكوز.

٢.	أحقن المريض عن طريق وريد اليد بمحلول ٥٠% جلوكوز معقم بمعدل ٠,٥غم/كغم من وزنه.	لتوفير جرعة جلوكوز في الدم مباشرة وللتخلص من إشكالات عملية الامتصاص في القناة الهضمية.
٣.	قم بجمع عينات دم من اليد الأخرى للمريض مباشرة بعد حقن الجلوكوز وكل عشرة دقائق مرة وعلى مدى ساعة من الزمن.	لاستخدامها في متابعة تركيز جلوكوز الدم على مدى ساعة من حقنه في الوريد.
٤.	قم بقياس تركيز جلوكوز الدم في جميع العينات بالطريقة المعتمدة في المختبر.	للتعرف على تركيز جلوكوز الدم في الفترات الزمنية اللاحقة لحقن الجلوكوز وعلى مدى ساعة من الزمن.
٥.	مثل العلاقة بين تركيز جلوكوز الدم وزمن جمع العينة بخط بياني حيث يثبت زمن جمع العينة على المحور السيني وتركيز جلوكوز على المحور الصادي حيث يظهر مستقيما ويتناقص تدريجيا.	لاستخدام سرعة انخفاض تركيز جلوكوز الدم في معرفة مدى احتمال الجلوكوز حيث يقل أو يكاد أن يتلاشى من مرضى السكري.
٦.	قم بحساب النسبة المئوية لانخفاض تركيز جلوكوز الدم في الدقيقة الواحدة مستخدما المعادلة التالية: $\frac{\text{جلوكوز العينة ١ - جلوكوز العينة الأخيرة} \times ١٠٠}{\text{جلوكوز العينة الأخيرة} \times ٦٠}$ وقرر درجة احتمال الجلوكوز كما يلي:	
	أ. إحتمال جلوكوز إنسان طبيعي.	لأن النسبة المئوية لسرعة انخفاض جلوكوز الدم=١,٥-١%
	ب. نقص احتمال الجلوكوز خاص بمرضى السكري.	لأن النسبة المئوية لسرعة انخفاض جلوكوز الدم تقل عن=١%.
	جـ. زيادة احتمال الجلوكوز خاص بنقص نشاط الغدد الدرقية والنخامية والكظرية.	لأن النسبة المئوية لسرعة انخفاض جلوكوز الدم تزيد عن=١,٥%.

٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد المستخدمة الى أماكن حفظها.	استعداداً لإجراء تجارب أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفايـــة العمليـــة –١٧٠–

جمع بول (٢٤) ساعة وقياس سرعة إدراره.

24hrs Urine Collection and Measurment of urine Out Flow

الـــهدف :

أن يكـــون الطـــالب قـــادرا علـــى جمـــع عينـــة ٢٤ ســـاعة مـــن البـــــول وقيـــــاس سرعة إدراره بالملل فـــي كـــل دقيقـــة.

المبـــدأ :

لقياس ســـرعة الإدرار البـــول يجـــب تجميـــع كـــل مـــا يخرجـــه الجســـم مـــن بـــول خـــلال ٢٤ ســـاعة وضبـــط الزمـــن الـــلازم لذلـــك لأقـــرب دقيقـــة بســـبب اختـــلاف سرعة ادراره من وقـــت لأخـــر خـــلال الليـــل والنـــهار.

الادوات والمـــواد اللازمـــــة :

- حاوية سعة ٢ لـــتر بفتحـــة واســـعة ومحكمـــة الإغـــلاق.
- حـــامض هيدروكوريـــك مركـــز .
- مخابر مدرجة بـــالملل ســـعة لـــتر.
- ساعة يـــد

الرقم	الخطوات	المبررات
.١	ضـــع فـــي حاويـــة نظيفـــة وجافـــة ٢٠ملـــل مـــن ٢ معيـــاري حـــامض هيدروكلوريـــك.	لحفظ البول المجمع خلال ٢٤ ساعة من التلف.
.٢	الفـــت نظـــر المريـــض الـــى وجـــود الحامض فـــي الحاويـــة قبـــل تســـليمها لـــه.	كـــي يكـــون حريصـــا عنـــد التعـــامل معـــها حتـــى لا ينســـكب الحامض أو يتـــاثر عليـــه.
.٣	أطلـــب مـــن المريـــض أن يتخلـــص مـــن بـــول الصبـــاح وضبـــط وقـــت خـــروج آخـــر قطـــرة مـــن البـــول خـــارج الحاويـــة لأقـــرب دقيقـــة وأن يجمع البول الـــذي يخـــرج منـــه علـــى فترات مختلفـــة خـــلال النـــهار والليـــل الذي يليـــه داخـــل الحاويـــة وأن يفـــرغ ما تحتويـــه المثانـــة مـــن بـــول مـــهما كان قليـــلا للآخـــر مـــرة فـــي الحاويـــة فـــي نفـــس الوقـــت الـــذي بـــدأ فيـــه التجميع في صبـــاح اليـــوم الســـابق.	للحصـــول علـــى كميـــة البـــول التي تفرزهـــا الكلـــى فـــي المثانـــة خلال ٢٤ ســـاعة.

.٤	اكتب اسم المريض على الحاوية عند استلامها.	لتمييز عينة المريض عن بقية العينات.
.٥	استخدم المخابر المدرجة لقياس حجم البول المتجمع في الحاوية وأطرح منه حجم المادة الحافظة للبول.	لمعرفة حجم البول الذي تفرزه المثانة خلال ٢٤ ساعة لأقرب ملل لاستخدامه في التعرف على كفاءة الكلى.
.٦	أقسم حجم البول المجمع في ٢٤ ساعة على ١٤٤٠ دقيقة.	للحصول على سرعة ادرار البول معبرا عنها بالملل /د تقدر سرعة أدرار البول الطبعية بـ ٠,٨٣ – ١,١ ملل /د.
.٧	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٧١-

فحص التنقية الكلوية

Kidney Clearance Test

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء تجربة التنقية الكلوية لأي مركب في الدم مثل الكريتين وبالتالي معرفة مدى قدرة الكلى على انجاز عملها.

المبدأ :

تعرف التنقية الكلوية لأي مركب بالسرعة اللازمة لمرور الدم في الكلى معبرا عنها بالملل / الدقيقة تنقية الدم بشكل كامل من المركب وتحسب بتطبيق المعادلة التالية:

التقينية الكلوية (ملل/د) =

$$\frac{\text{تركيز المركب في البول (ملغم/دل)} \times \text{سرعة إدرار البول (ملل/د)}}{\text{تركيز المركب في البلازما (ملغم/ دل)}}$$

يستخدم الكريتينين في قياس تجربة التنقية الكلوية لأنه مركب استقلابي ولا تتأثر تنقيته بشكل محسوس بسرعة إدرار البول ولا بطبيعة الغذاء كما هو الحال بالنسبة للبولينا ولا يعادل امتصاصه في الكلى.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- جهاز تحليل طيفي لوني.
- مجموعة المواد اللازمة لقياس الكريتينين بطريقة جافي (Jaffe).
- سحبار مدرج بالملل سعته ٥٠ ملل.
- حاوية لجمع عينة البول سعته ٥٠٠ ملل.
- حاويات دم مانع تجلط جاف EDTA.
- إبر سحب الدم مع حقنها.
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ملم

القنصية الكلوي للكريتيين CKCT

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	زود المريض بحاوية نظيفة وجافة واطلب منه أن يشرب كأس ماء وأن يفرع مثانته من البول خارج الحاوية قبل ساعتين من حضوره الى المختبر وأن يضبط وقت تخلصه من اخر قطرة بول خارج الحاوية لأقرب دقيقة وأن يتناول طعامه وشرابه كالمعتاد وأن يجمع كل ما يخرجه من البول لاحقا في الحاوية.	لتحديد بداية توقيت جمع عينه البول في المثانة لأقرب دقيقة.

٢.	أسحب عينة دم على مانع تجلط حال وصول المريض للمختبر.	لاستخدامها في قياس تركيز الكريتين في البلازما.
٣.	أسق المريض كأسا ماء ودعه ينتظر بعد ذلك لمدة ساعة الى ساعتين حتى يشعر بحاجته لإخراج البول واطلب منه أن يفرغه في الحاوية وأن يضبط وقت خروج البول لأقرب دقيقة وأن لا يفرط بأي قطرة منه.	لتحديد نهاية توقيت جميع البول من المثانة لأقرب دقيقة.
٤.	أكتب اسم المريض على الحاوية وعينة الدم.	لتمييز عينة المريض عن بقية العينات لقياس كمية البول المجمعة لأقرب ملل بدون تدخل أي طبقة من الرغوة في تحديد سطح البول لمعرفة زمن جمع عينة البول لأقرب دقيقة.
٥.	أنقل البول المجمع في الحاوية عند استلامها إلى مخبار مدرج بالملل سعته ٥٠٠ ملل بشكل مائل.	لقياس كمية البول المجمعة لأقرب ملل بدون تدخل أي طبقة من الرغوة في تحديد سطح البول.
٦.	أطرح زمن بدء تجميع البول في الحاوية من زمن نهاية التجميع.	لمعرفة زمن جمع عينة البول لأقرب دقيقة.
٧.	أقسم كمية البول (بالملل) على زمن تجميعه (دقيقة).	للحصول على سرعة إدرار البول بالملل/دقيقة.
٨.	قم بقياس تركيز الكريتينين في عينات الدم والبول التي تم الحصول عليها من المريض بالطريقة المعتمدة.	لاستخدام تركيز الكريتينين في عينات البول والدم في حساب التنقية الكلوية للكرتينين.
٩.	استخدم معادلة التنقية الكلوية المشار لها في المبدأ في حساب التنقية الكلوية للكرتيين.	لمعرفة مدى كفاءة الكلى إذ تساوي التنقية الكلوية الطبيعية للكريتين ٩٥-١٤٠ ملل/د للرجال و ٨٥-١٢٥ ملل/د للنساء. تقل التنقية الكلوية للكريتين عن الحد الأدنى للقيم الطبيعية في حالة الاضطرابات الكلوية.
١٠.	نظف الأدوات ومكان العمل واعد المواد والأدوات الى أماكن حفظها.	استعداد لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

دلالة الرموز

١. ملم = مليميتر = ١متر × ١٠$^{-٣}$.
٢. ملغم = مليغرام = ١غرام × ١٠$^{-٣}$.
٣. ملل = ميلييتر = ١لتر × ١٠$^{-١}$.
٤. ميك = ميكروميتر = ١ × ١٠$^{-٦}$.
٥. ميكم = ميكروميتر = ١متر × ١٠$^{-٦}$.
٦. مميك = ميلميكرون = ١ × ١٠$^{-٩}$.
٧. ميكغم = ميكروغرام = ١غرام × ١٠$^{-٩}$.
٨. مول = وزن جزئي.
٩. ممول = مليمول = ١وزن جزيئي × ١٠$^{-٣}$.
١٠. ميكمول = ميكرومول = ١وزن جزيئي × ١٠$^{-٦}$.

المراجع العلمية

Quaranogkaphy

١. علم الأحياء الدقيقة (الجراثيم)، الطبعة الثالثة ١٩٩٨، الجزء الثـــاني – الطـبي التشخيصي – يوسف إبراهيم المشني، دار المستقبل للنشر والتوزيـع، عمـان – الأردن.

٢. علم المناعة والأمصال، الطبعة الأولى ١٩٩٠، يوسف المشني، دار عمان للنشـر والتوزيع، عمان – الأردن.

٣. علم الأحياء الدقيقة، الطبعة الثالثة ١٩٩٨، الجزء الأول – الأساسيات – يوسـف ابراهيم المشني، دار المستقبل للنشر والتوزيع.

٤. علم الدم، الطبعة الأول ١٩٩١، عبد الرحيم فطاير، دار الثقافة للنشر والتوزيع.

٥. بنك الدم، الطبعة الأولى ١٩٩١، دار الثقافة للنشر والتوزيع، عمان – الأردن.

6. **BAILEY & SCOTTS DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY 9TH EDITION 1994, BY ELLEN JOBARON, LANCE R. PETERSON SYDNEY M. FINEGOLD MOSBY- ST LOWIS BALTIMORE BOSTEN, CHICAGO, LONDON, MADRID, ISBN 0-8016-0420-6.**
7. **SPECIMEN COLLECTION AND TRANSPORT FOR MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION, WHO 1995 – ISBN 92-9021-1962.**
8. **MEDICAL MICROBIOLOGY – 12TH EDITION – 1982 BY- R- CRUICKSHANK, J.P.DUGUID B.P. MATIMION, R.H.A. SWAIN,**

CHURCHILL LIVING STONE EDINBURGH, LONDON- AND N.Y. ISBN 0-4430-1111-7.

9. CROWN & TELLS MANNAL FOR IDENTIFICATION, OF BADERIA – 2ND EDITION – 1981, BY – CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS LONDON, N.Y, N. ROCHELLE, MELBOURNE- SYDNEY ISBN 0-521-20399-6.
10. MANNUAL OF CLINICAL LABARATORY IMMUNOLOGY 4TH EDITION 1992, BY NOEL R. ROSE, EVERLY CONWAY DE MACARIE, JOHN L. FAHEY, HERMAN FRIEDMAN O GERALD H.PENN.
11. IMMUNOLOGY – 1985 BY IVAN ROITT, JONATHAN BROSTOFF, DAVID MALE, PUB. GO WER MEDICAL PABLISHING LTD, ISBN- 906923-35-2, CHURCHILL LIVINGSTONE ISBN 0443-02912-1 EDINBURGH, LONDON AND N.Y.
12. CLINICAL PARASITOLOGY- 8TH EDITION 1976 BY- ERNESTCAROLL FAUST, PAUL FARR RUSELL.
13. THEORY AND PRACTICE OF HISTOLOGICAL TECHNIGUES 3RD EDITION 1990.
14. CLINICAL HEMATOLOGY 1ST EDITION 1988 BY MARY LOUISE TURGEON.
15. WINTROBE CLINICAL HEMATOLOGY 8TH EDITION 1981.
16. PRACTICAL HEMATOLOGY – 5TH EDITION- 1982.
17. BLOOD GROUPS FEROLOGY 5TH EDITION – 1981.
18. ISBN. 0-443-01475-2.
19. ANALYTICAL CHEMISTRY –4TH EDITION – 1986.
20. FUNDEMENTALS OF ANALYTICAL CHEMISTRY 3RD EDITION 1976.
21. TODD-SANFORD-CLINICAL DIAGNOSIS 14TH EDITION –1969.
22. CLINICAL DIAGNOSIS & MANAGEMENT 17TH EDITION 1984.
23. CLINICAL CHEMISTRY 1ST EDITION 1981.
24. CLINICAL CHEMISTRY, PRINCIPLES AND TECHNIQUES.
25. PRACTICAL CLINICAL CHEMISTRY 5TH EDITION 1980.

الفهرس

الفصل الثاني: علم الطفيليات الطبي

الفصل الخامس : علم دم

الفصل الثامن : علم الكيمياء التحليلية ٢٨١

كتب الدار الصادرة

1. الكتب الطبية

- علم وظائف الأعضاء
- تخزين الأدوية وحفظها
- أساسيات طب العيون
- بنوك الدم
- العلوم العامة
- علم الأحياء الدقيقة جـ1/2
- الكيمياء الحيوية
- مبادئ الصحة العامة
- الإسعاف الأولي
- الاحياء الدقيقة / عملي
- الدمويات / عملي
- الأجهزة الطبية / عملي
- الكيمياء التحليلية / عملي
- الكيمياء العضوية / عملي
- الكيمياء الحيوية / عملي
- المناعة والأمصال / عملي
- الإدرار والطفيليات / عملي
- الكفايات العملية لتخصص المختبرات الطبية
- مقدمة في علم الأمراض

2. الكتب الهندسية والفنية

- الاستشعار عن بعد في الهندسة المدنية
- المواصفات العامة للأبنية
- الهندسة البيئية
- تكنولوجيا الخياطة
- العقود والمواصفات وحساب الكميات
- الهندسة الصحية
- عقود المقاولات الانشائية
- المطالبات والمخالفات في عقود المقاولات
- تصميم الأزياء
- تصميم المخططات والخياطة
- مبادئ التصميم
- تاريخ الفن 2/1

3. الكتب التجارية

- أساسيات الإدارة الحديثة
- مبادئ الاستثمار
- مبادئ الاقتصاد
- استراتيجية التسويق
- أبعاد التنمية في الوطن العربي
- إدارة المبيعات
- مبادئ التسويق
- أساسيات الإدارة المالية في القطاع الخاص
- محاسبة التكاليف الصناعية
- المحاسبة الحكومية
- المالية العامة (علوم مصرفية)
- التدريبات العملية في التجارة
- المحاسبة الأولية
- دراسات في محاسبة المنشآت الخاصة
- تطبيقات المحاسبة على الحاسوب
- أصول المحاسبة 1
- أصول المحاسبة 2
- علم تدقيق الحسابات
- مبادئ القانون التجاري
- المحاسبة الضريبية
- الاقتصاد الكلي
- الاقتصاد الجزئي

4. الكتب الانسانية

- الحقائب التدريبية
- اللغة العربية – ثقافة عامة
- مختارات من الشعر العربي الحديث
- دراسات في اللغة والأدب
- الإدارة والاشراف التربوي
- دليل البحث والتقويم التربوي
- الجغرافيا المناخية
- الطبخ العربي باللغة الانجليزية
- في رحاب محمد ﷺ "ديوان شعر"
- سيكولوجية الطفولة
- السياسة الفرنسية تجاه الثورة العربية الكبرى
- خطوة خطوة في الحج والعمرة
- عالمان مختلفان "الرجل والمرأة"
- علم الاجتماع السياسي ...
- (قضايا الحرب والعنف والسلام
- فقه العبادات (1) الطهارة والصلاة

5. كتب الحاسوب

- الكمبيوتر وتطبيقاته
- البرمجة بلغة التجميع جـ1/2
- تركيب البيانات
- معالجة النصوص
- نظم تشغيل انجليزي
- البرمجة الهيكلية بلغة باسكال

تحت الطبع

- علم المناعة والأمصال
- علم الأنسجة
- علم الطفيليات الطبي
- إجراءات السلامة العامة
- ضبط الجودة النوعية
- الكيمياء التحليلية
- طرق التحليل الآلي
- إجراءات السلامة المخبرية
- الفيزياء الكلاسيكية

هذا الكتاب

تم وضع هذا الكتاب باللغة العربية ليشمل الكفايات العملية لتخصص فنيو المختبرات الطبية بأسلوب علمي تطبيقي ليتسنى للطالب التحضير المسبق للتجارب العملية التي سيطبقها في المختبرات ويحتكم إليه كأداة قياس على مدى إتقانه الخطوات والمهارات التي يجب ممارستها في المختبر سواء كان طالباً أو فنياً . ولكي تتعمق لدى القارئ الخلفية النظرية لكل كفاية عملية فقد تم تضمين كل كفاية عملية مبدأها العلمي والهدف من إجرائها .

الناشر



DAR AL-MOSTAQBAL
For Pub & Dist
Amman - Jordan
P.O.Box 184248 - 11118 Telefax 4658263